EIN SELEKTIONSVERSUCH AUF ANTIKÖRPERBILDUNGSVERMÖGEN GEGENÜBER DNP-HAPTEN BEIM SCHWEIN

Andrea Kleinschmidt

Diss. München
1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534927_0012

EIN SELEKTIONSVERSUCH AUF ANTIKÖRPER-BILDUNGSVERMÖGEN GEGENÜBER DNP-HAPTEN BEIM SCHWEIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Andrea Kleinschmidt
München 1983

durchgeführt am
Institut f. Med. Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. DDr. h.c. A. Mayr

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Cleve

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Gutensohn

Sondervotum: Prof. Dr. H. Buschmann

Tag der mündlichen Prüfung: 6.Februar 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

M E I N E N E L T E R N

Die Genugtuung
liegt in der Mühe, sein Ziel zu erreichen,
nicht im Erreichen selbst.

Mahatma Gandhi

Herrn Prof. Dr. H. Buschmann bin ich zu großem Dank verpflichtet. Von ihm stammte die Anregung zu den vorliegenden Untersuchungen. Seine jederzeit gewährte Unterstützung und seine fachliche Beratung ermöglichten die Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. DDr. h.c. A. Mayr danke ich an dieser Stelle für sein freundliches Entgegenkommen und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Institut für Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Cleve für die Bemühungen um die vorliegende Arbeit.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen Kollegen und Mitarbeitern des Institutes für Mikrobiologie, insbesondere bei Frau H. Herrmann, für wertvolle Diskussionen und die erwiesene Hilfsbereitschaft im Verlaufe dieser Arbeit.

Für die Bereitstellung der Versuchstiere am Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim danke ich den Herren Prof. Dr. H. Kräußlich und Prof. Dr. J. Meyer.

Zuallerletzt möchte ich mich herzlich bei einem guten Freund bedanken, der mit seinem Rat, seiner Geduld und seiner Bereitschaft zu Diskussionen erheblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht	2
3.	Problematellung und Lösungsweg	19
4.	Material und Methoden	22
4.1.	Selektion auf Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten	22
4.1.1.	Immunisierungsverfahren	22
4.1.2.	Herstellung des Antigens	22
4.1.3.	Nachweis der Antikörper	22
4.1.4.	Selektionsverfahren	24
4.2.	Korrelierte Selektionsergebnisse	25
4.2.1.	Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die humorale Immunität	25
4.2.1.1.	Immunisierung mit T4-Bakteriophagen	25
4.2.1.1.1.	Immunisierungsverfahren	25
4.2.1.1.2.	Nachweis der Antikörper	25
4.2.1.2.	Immunisierung mit Tetanus-Vaccine	26
4.2.1.2.1.	Immunisierungsverfahren	26
4.2.1.2.2.	Nachweis der Antikörper	26
4.2.1.3.	Immunisierung mit Hühnereialbumin	28
4.2.1.3.1.	Immunisierungsverfahren	28
4.2.1.3.2.	Nachweis der Antikörper	29
4.2.2.	Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die zelluläre Immunität	30
4.2.2.1.	Stimulierbarkeit der Lymphocyten durch Mitogene	30
4.2.2.2.	E- und EAC-Rosettenbildung	31
4.2.2.2.1.	E-Rosettenbildung	31
4.2.2.2.2.	EAC-Rosettenbildung	32

4.2.2.3.	Phagocytosefähigkeit der Leukocyten	32
4.2.2.4.	Leukocytenzahl	33
4.3.	Weitere immunologische Parameter für die Untersuchung der korrelierten Selektionsergebnisse	34
4.3.1.	Reaktion auf eine Immunisierung mit Kaninchen-immunglobulin G	34
4.3.2.	Antikörperantwort auf eine Immunisierung mit Rotlauf-Vaccine	34
4.3.3.	Phagocytose von Hefepartikeln durch Leukocyten	35
4.3.4.	Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen	36
5.	Ergebnisse	38
5.1.	Selektion auf Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten	38
5.2.	Korrelierte Selektionsergebnisse	50
5.2.1.	Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die humorale Immunität	50
5.2.1.1.	Immunisierung mit T4-Bakteriophagen	50
5.2.1.2.	Immunisierung mit Tetanus-Vaccine	55
5.2.1.3.	Immunisierung mit Hühnereialbumin	59
5.2.2.	Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die zelluläre Immunität	64
5.3.	Weitere immunologische Parameter für die Untersuchung der korrelierten Selektionsergebnisse	68
5.3.1.	Reaktion auf eine Immunisierung mit Kaninchen-immunglobulin G	68
5.3.2.	Antikörperantwort auf eine Immunisierung mit Rotlauf-Vaccine	68
5.3.3.	Phagocytose von Hefepartikeln durch Leukocyten	69
5.3.4.	Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen	70
6.	Diskussion	72
7.	Zusammenfassung	85
8.	Literaturverzeichnis	86

Abkürzungen

AG	Antigen
AK	Antikörper
BSA	Rinderserumalbumin
Con A	Concanavalin A
DNP-	Dinitrophenyl-
E-Rosetten	Spontan-Rosetten mit Schafserythrocyten
EAC-Rosetten	Rosetten mit Schafserythrocyten über einen Antikörper-Komplement-Komplex
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FKS	fötales Kälberserum
HA	Hämagglutination
H- und L-Mäuse	Mäuse der Biozzi'schen 'High'- und 'Low Responder' Linien
IFA	inkomplettes Freund Adjuvans
IgG	Immunglobulin G (entsprechend IgM)
Imm.	Immunisierung
Kan	Kaninchen
K-Wert	ein von der Antikörperkonzentration abhängiger Ergebniswert im Phagenneutralisationstest
LPO	Lactoperoxidase
LPS	Lipopolysaccharide von Salmonella thyphosa
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
NaCl-Lsg.	physiologische Kochsalzlösung
NK	'Natural Killing'
Ovalbumin	Hühnereialbumin
PBS	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PHA	Phytohämagglutinin aus Phaeseolus vulgaris
4 d p. imm.	4 Tage nach der Immunisierung
P/R	Phagocytoseindex
PWM	Pokeweed Mitogen
RPMI 1640	Zellkulturmedium von Seromed, München
s_D	Standardabweichung
S_i	Stimulationsindex
SLA	Haupthistokompatibilitätskomplex des Schweines
SRBCs	Schafserythrocyten
SSR	Standardisierte spezifische Chrom-Freisetzung im 'Natural Killing'-Test
Sw	Schwein

1. Einleitung

Als Folge der starken Selektion auf Leistungs- und Produktionsmerkmale in der Haustierzucht nimmt die Anfälligkeit der Schweine, Rinder, Hühner und Schafe gegenüber Infektions- und Faktorenerkrankungen zu. Um dem gesteigerten Infektionsrisiko in diesen Beständen entgegenzuwirken, bieten sich Chemotherapie und Impfung, eine verbesserte Fütterung und Hygiene und eine artgemäßere Haltung an. Da jedoch diese Probleme, vom wirtschaftlichen Standpunkt gesehen, heute relativ optimal gelöst sind, stellt sich dem Tierzüchter die Frage, inwieweit eine Selektion auf Resistenz gegenüber diversen Krankheitserregern möglich ist.

Aus Versuchen mit kleinen Versuchstieren ist bekannt, daß viele immunologische Reaktionen durch Gene kontrolliert werden, die z.T. mit dem Haupthistokompatibilitätskomplex assoziiert (Snell et al. 1976) und damit relativ leicht genetischen Untersuchungen zugänglich sind. Außerdem ist es inzwischen möglich, 'High-' und 'Low Responder' Linien von kleinen Versuchstieren in Bezug auf das Antikörperbildungsvermögen gegenüber verschiedenen Antigenen zu züchten (Biozzi , et al. 1979). Auch aus der Schweinezucht ist die Möglichkeit einer Selektion auf Resistenz gegenüber bestimmten Krankheitserregern schon seit langem bekannt (Hutt 1958), allerdings handelte es sich bei diesen Experimenten um Belastungsversuche, d.h. nur die Tiere, die eine natürliche oder künstliche Infektion überlebt hatten, wurden zur Weiterzucht verwendet. Diese Art von Versuchen steht heute aus tierschutzrechtlichen und wirtschaftlichen Gründen nicht mehr zu Diskussion.

Die vorliegende Arbeit beschreibtden Versuch, mit Hilfe eines definierten Antigens, eine 'high responder' Linie von Schweinen zu züchten und die Konsequenzen dieser Selektion auf andere immunologische Parameter zu untersuchen.

2. Literaturübersicht

Die heutige Haustierzucht orientiert sich an Leistungs- und Produktionsmerkmalen wie Fruchtbarkeit, Menge und Qualität von Milch, Eiern und Fleisch, Wachstumsrate und Futterverwertung. Das Merkmal Krankheitsresistenz wurde in den letzten Jahrzehnten kaum beachtet und findet auch heute nur vereinzelt Zugang in die praktische Haustierzucht. Angesichts der wachsenden Weltbevölkerung und fehlender Nahrungsmittelresourcen stellt sich jedoch die Frage, wie - trotz der wenigen noch zu erschließenden landwirtschaftlichen Nutzflächen und einer kaum zu steigernden Produktionskapazität - in der Haustierzucht effektiver gearbeitet werden kann. Eine Verminderung der Produktionsausfälle, z.B. durch Steigerung der Krankheitsresistenz, wird deshalb an Bedeutung gewinnen. Die zum Teil erheblichen Verluste durch Krankheiten in Haustierbeständen spiegeln sich in folgenden Zahlen wieder: Auf ca. 2 Milliarden Dollar jährlich belaufen sich die Verluste durch Mastitiserkrankungen in nordamerikanischen Rinderbeständen (Miller 1982) und auf ca. 20 Milliarden Dollar die Verluste durch Krankheiten in französischen Tierbeständen (Mornet 1972), davon entfallen ungefähr 200 Millionen Dollar allein auf die Geflügelzucht (Meurier 1965).

Allerdings ist der Schaden durch Krankheiten in Haustierbeständen schwierig abzuschätzen, da nicht nur die Mortalitäts-, sondern auch die Morbiditätsrate mit ihren Folgen auf die Produktion in die Berechnung eingehen müssen. So liegt z.B. die Mortalität bei der Hühner-Leukose bei nur etwa 1-3%, aber als Folge der Erkrankung nehmen u.a. die Eiproduktion und das Körpergewicht ab (Gavora et al. 1980, 1982). Ähnliche Ergebnisse sind auch aus der Schweinezucht bekannt. So führen Krankheiten wie Coli-Ruhr, Schweineinfluenza, virale Gastroenteritis (TGE), Milchfieber (MMA-Syndrom), Schnüffelkrankheit und Wurmparasitosen

nur selten zum Tod der Tiere, sind aber verantwortlich für erhebliche finanzielle Schäden durch langes Kümmern der Ferkel oder durch schlechte Mastergebnisse bei älteren Tieren (Comberg 1978).

Im Laufe einer Untersuchung auf Krankheitsresistenz stellt sich die Frage, welche auslösenden Faktoren von Erkrankungen in der Tierzucht bekannt sind: Zum einen handelt es sich hierbei um spezifische Haltungs- und Fütterungsbedingungen, als Beispiel für das letztere seien besonders die immer häufiger auftretenden Pilztoxinvergiftungen erwähnt (Gedek 1980, Bauer 1982) sowie Erkrankungen als Folge von 'Stress', und zum anderen um Bakterien, Pilze, Viren oder Parasiten als pathogenes Agens. Meist müssen jedoch mehrere dieser Faktoren zusammentreffen, damit es zu einem deutlichen Krankheitsbild kommt, daher auch der Ausdruck 'Faktorenerkrankung'.

Die Haltungs- und Fütterungsbedingungen in der Tierzucht haben sich in den letzten Jahrzehnten sehr stark verändert, und da der heutige Status unter den wirtschaftlichen Gesichtspunkten des Tierzüchters, wenn überhaupt, dann nur in einem minimalen Umfang, veränderbar ist, kann von dieser Seite kein Einfluß auf das Zurückdrängen von Faktorenerkrankungen erwartet werden.

Stress, als auslösende Ursache von Krankheiten und schlechter Fleischqualität, sowie die genetische Prädisposition, auf Stress empfindlich oder unempfindlich zu reagieren, sind dagegen zu einem vieluntersuchten Phänomen in der Haustierzucht geworden. Am Beispiel des Stress-Syndroms soll daher gezeigt werden, daß eine genetische Determination und damit eine Zucht auf Resistenz durchaus möglich erscheinen. So ist bekannt, daß es als Folge von Stress-Situation, wie Haltung in überfüllten Stallungen, nicht tiergerechte Transporte , etc., bei Haustieren zum Auftreten von Magengeschwüren (Muggenburg et al. 1967),

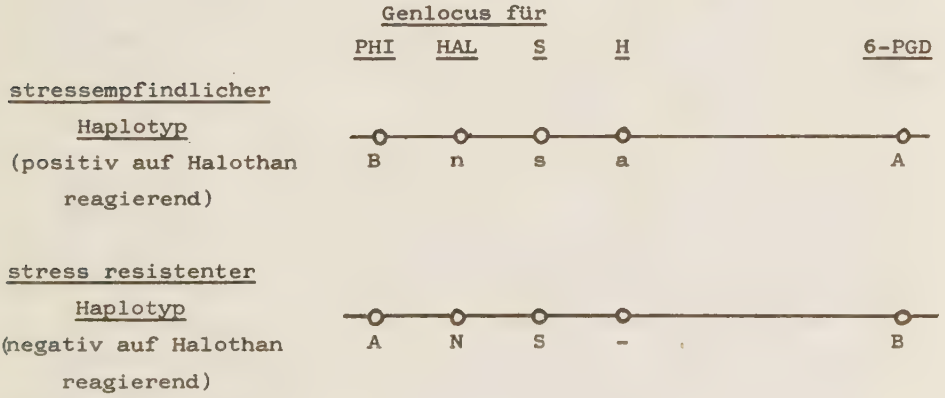
Salmonella-Infektionen und zu Veränderungen der Lungenmakrophagenaktivität (Woolcock 1979) kommen kann. Zudem führen solche Situationen bei Schweinen oft zu direkten Todesfällen infolge des 'Porcine Stress Syndroms' (PSS) (Topel et al. 1968) oder der 'Malignen Hyperthermie' (MH) (Lucke et al. 1979, Nelson et al. 1979). Vom wirtschaftlichen Standpunkt sind jedoch weniger diese Ausfälle interessant, sondern eher als indirekte Folge das farblose, weiche, flüssigkeitsreiche (Pale, Soft, Exudative) Fleisch der Schweine.

Vermutungen gehen in die Richtung, daß für PSS, MH und PSE-Fleisch eine gemeinsame Ursache zugrunde liegt (Nelson 1978). Eine Untersuchung in Bezug auf die Veranlagung zu einem dieser drei Merkmale wird heute u.a. mit Hilfe des Halothan-Tests (Kallweit 1981) durchgeführt. Es handelt sich hierbei um einen einfachen und für die Schweine harmlosen Test, der zu einer Differenzierung von Halothan-positiven (Hal^+) und Halothan-negativen (Hal^-) Tieren führt, wobei für Hal^+-Tiere das PS-Syndrom, z.T. die maligne Hyperthermie und auf jeden Fall die Neigung zu PSE-Fleisch zutrifft. Durch Rassenvergleiche wurde festgestellt, daß es sich hierbei um ein genetisch determiniertes Merkmal handelt (Joergensen et al. 1977, Eikelenboom et al. 1980).

Ausgehend von einem schon bekannten Polymorphismus von
- Serumproteinen wie Serumesterase (Grunder u. Kristjansson 1974), alkalische Phosphatase (Kierek-Jaszeczuk et al. 1979), Präalbumin (Juneja u. Gahne 1981), Amylase und Transferrin (Zurkowski et al. 1974, Willer und Neuffer 1970), und Lipoproteine (Rapacz et al. 1976, 1978),
- Erythrocytenenzymen wie Phosphohexose Isomerase (PHI) und 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGD) (Kramser 1973, Widar et al. 1975, Oishi et al. 1979, Nielsen 1979),
- und Blutgruppenantigenen (Hojny 1974, Tikhonov und Ratiany 1973 van Asten und Buis 1977).

und deren Zusammenhang mit Produktions- und Leistungsmerkmalen

in der Schweinezucht (Berndt et al. 1978, Lengerken u. Albrecht 1981, Imlah 1974, Andresen u. Jensen 1979, Andresen et al. 1979 Andresen 1979), wurde in den letzten Jahren versucht, eine Verbindung zwischen der Halothanreaktion und den Ergebnissen in Bezug auf die Verteilung der Blutgruppen, der Phosphohexose Isomerase (PHI) und der 6-Phosphogluconat Dehydrogenase (6-PGD) zu ziehen. Die Untersuchungen verliefen mit dem Ergebnis, daß die Halothan-Sensitivität sowohl mit den Loci für PHI und 6-PGD, als auch mit den Loci für die Erythrocytenantigene (H) und dem Supressor-Faktor für die Blutgruppen (S) assoziiert ist (Rasmusen u. Christian 1976, Jorgensen 1978, Andresen u. Jensen 1977, Ansay u. Ollivier 1978, Imlah u. Thomson 1979, Hyldgaard-Jensen et al. 1979, Watanabe et al. 1979), bei folgender Anordnung der Loci und Allele (Webb et al. 1982):



wobei PHI für Phosphohexose Isomerase (A und B)
HAL für Halothansensitivität (N und n)
S für Supressor für A und O-Blutgruppen (S und s)
H für Erythrocytenantigene (a und andere-)
6-PGD für 6-Phosphogluconat Dehydrogenase (A und B)
stehen.

Zudem unterscheiden sich Halothan-positive (nn) von Halothan-negativen (NN) Tieren deutlich in Parametern der Schweinemast.

Erstere zeigen eine bessere Futterverwertung, eine geringere tägliche Zunahme, eine dünnere dorsale Fettschicht, eine kürzere Schlachtkörperlänge, einen höheren Schinkenanteil, aber auch die prozentual höhere Veranlagung zu PSE-Fleisch; Werte von Tieren mit heterozygotem Genotyp (Nn) liegen zwischen denen der Tiere mit homozygotem (NN oder nn) Genotyp (Frøystein et al. 1981, Eikelenboom et al. 1980, Jensen 1981, Jensen u. Andresen 1980). Bekannt ist außerdem eine positive Korrelation zwischen Stress- (= Halothan-) Empfindlichkeit und der Menge der nach einem Belastungsversuch im Blut gemessenen Creatinkinase (CK) (Kallweit et al. 1978, Richter et al. 1973), weshalb der CK-Test oft ergänzend zum Halothan-Test durchgeführt wird.

Der hier vorgestellte Überblick über den Stand der Untersuchungen in Bezug auf Stressanfälligkeit von Schweinen sollte verdeutlichen, daß es in nur wenigen Jahren gelungen ist, dem Schweinezüchter die Möglichkeit zu geben, Ausfällen durch die 'Krankheit' Stress in seinen Populationen durch eine bewußte Selektion entgegenzuwirken, wenn auch unter Verlusten in puncto Fleischmenge und einer optimalen Futterverwertung.

Ein sehr viel komplexeres Problem ist die Resistenz gegenüber Krankheiten, hervorgerufen durch Bakterien, Viren, Pilze oder Parasiten. Die Zucht auf Resistenz gegenüber diesen Erregern wurde schon vor mehreren Jahrzehnten begonnen, jedoch immer unter der Prämisse des Belastungsversuchs, d.h. nur Tiere, die eine Infektion überlebt hatten, wurden zur weiteren Zucht verwendet. So gelang es in nur wenigen Generationen, Tierpopulationen zu züchten, die gegen spezifische Erreger resistent waren (Hutt 1958). Als die wohl bekanntesten Beispiele sind die gegen die Marek'sche Krankheit resistenten Hühner und die gegen Myxomatose resistenten australischen Kaninchen zu nennen. Auch aus der Humanmedizin sind Fälle von Infektionsresistenz bekannt, die nicht auf einer immunologischen Grundlage beruhen, so z.B. die erhöhte Malariaresistenz bei einer Veranlagung zur

Sichelzellanämie. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß Krankheitsresistenz genetisch determiniert und somit die Selektion auf Resistenz gegenüber einem spezifischen Erreger möglich ist. Aber für die heutige Haustierzucht stellt sich nunmehr die Frage, ist es auch möglich, auf Resistenz gegenüber einer Vielfalt von Erregern zu züchten?

Abwehrmechanismen gegenüber Krankheiten können grob unterteilt werden in die mit immunologischer und die mit nicht immunologischer Grundlage. Für die zweite Kategorie können als Beispiele die Sensibilität von Ferkeln und Mastschweinen gegenüber Escherichia coli-Infektionen und die Veranlagung von Wiederkäuern zu starken Blähungen genannt werden. Beide Erkrankungen scheinen eine einfache genetische Basis zu haben. So ist für die Sensibilität gegenüber E.coli-Infektionen der Rezeptor der Dünndarmepithelzellen für das K88-E.coli-Antigen und damit die Adhäsion der Bakterien von großer Bedeutung. Er wird determiniert durch einen einzigen Genlocus mit zwei Allelen, wobei die Adhäsion dominant, die Nicht-Adhäsion rezessiv vererbt wird. Somit ist die Möglichkeit gegeben, in nur einer Generation durch die Verwendung eines homozygot rezessiven Ebers eine Nachkommenschaft zu züchten, die gegenüber E.coli-Infektionen eine erhöhte Resistenz aufweist (Walters und Sellwood 1982). Während bei Ferkeln die Adhäsion von Nachteil ist, erweist sie sich als Vorteil bei Mastschweinen (Edfors-Lilja et al. 1982). Die Veranlagung von Wiederkäuern zu starken Blähungen scheint in Zusammenhang mit vier im Speichel vorkommenden Enzymen zu stehen, wobei das Mengenverhältnis von dreien dieser Proteine zueinander eine deutliche Aussage über die Stärke der Veranlagung zuläßt (McIntosh und Cockrem 1982).

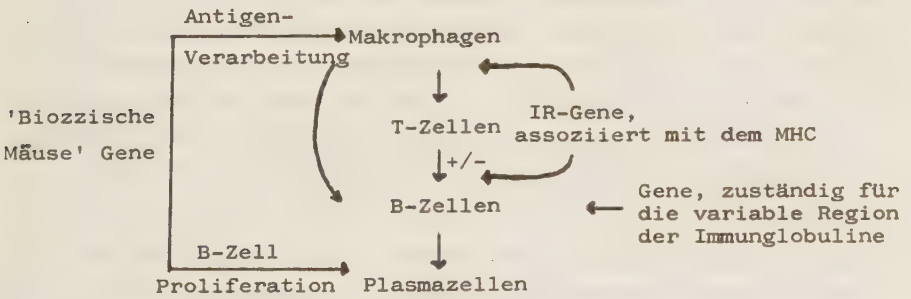
Die Abwehrmechanismen mit immunologischer Grundlage können unterteilt werden in die humorale (Antikörper, Komplementfaktoren) und in die zelluläre Immunantwort (u.a. T- und B-Lymphocyten, Makrophagen). Zwar steht jedem der genannten Parameter bei einer

Infektion eine Funktion zu, es variiert jedoch die Wertigkeit eines einzelnen Parameters mit der Art des Erregers. So ist aus dem humanen System bekannt, daß es bei einer B-Zell-Dysfunktion gehäuft zu Infektionen mit pyogenen Bakterien und bei einer T-Zell-Dysfunktion öfter zu Infektionen mit Viren und Pilzen, insbesondere durch Candida-Arten, kommt (Roitt1980).

Die Untersuchung immunologischer Dysfunktionen bei der Maus sind zur Grundlage vieler Experimente der Tumorforschung geworden. Eine herausragende Stellung nimmt dabei die 'nude' (nu nu) Maus ein, der ein angeborener Defekt der T-Zell-Differenzierung zueigen ist. Diese fehlende Immunfunktion der T-Zellen führt zu einer starken Sensibilität solcher Tiere, verglichen mit normalen Mäusen, gegenüber diversen viralen Erregern. Dies gilt u.a. für verschiedene Formen des Maus-Hepatitisvirus' (Dick et al. 1956, Fujiwara et al. 1977) und für Infektionen mit Sendaivirus (Festing et al. 1978, Ward et al. 1976).

Die Bestrahlung von Mäusen, durch die die Funktion der B-Zellen in größerem Umfang als die der T-Zellen beeinträchtigt wird, hat oft eine letale Septikämie mit Pseudomonas aeruginosa (Stoner et al 1965) zur Folge. Ebenso wird von Infektionen mit Klebsiellen (McGary et al. 1976) und Pasteurellen berichtet. Bei 'nude' Mäusen wird der Einfluß der T-Zell-Dysfunktion auch bei bakteriellen Infektionen deutlich (Moore u. Aldred 1978), womit auf die Steuerung der B-Zell-Differenzierung durch das T-Zell-System hingewiesen wird. Außerdem erweisen sich diese Mäuse als anfälliger für Parasitosen,hervorgerufen von Erregern wie Giardia muris (Boormann et al. 1973), Nematoden (Jacobson u. Reed 1974) und Cestoden (Reed et al. 1977).

Die Parameter einer Immunantwort werden durch diverse Gensysteme, im weiteren IR-(Immune Response) Gene genannt, gesteuert. So Wird unterschieden zwischen IR-Genen, die mit dem Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) assoziiert sind, IR-Genen, die die Struktur der Immunglobuline bestimmen (Allotyp, Idiotyp), IR-Genen, assoziiert mit dem X-Chromosom (bekannt aus dem humanen- und dem Maus-System) und solchen, die mehrere Parameter einer Immunantwort (insbesondere die Proliferation der B-Zellen und Aktivierung der Makrophagen) gleichzeitig kontrollieren und unter Umständen zu den zwei erstgenannten Gruppen gehören, bisher allerdings noch nicht genauer lokalisiert sind, auch 'Biozzi'sche Mäuse' Gene genannt (nach Roitt 1980). Der Einfluß dieser verschiedenen IR-Gene auf die Kooperation von Makrophagen, T- und B-Zellen und damit auch auf die Antikörper-Produktion stellt sich nach Roitt (1980) folgendermaßen dar:



Da nur wenige Antigene eine reine B-Zell-Immunantwort provozieren, wie z.B. hochgereinigte bakterielle Polysaccharide, die meisten immunologischen Reaktionen jedoch durch die Subpopulationen von T-Lymphocyten gesteuert werden, ist der Haupthistokompatibilitätskomplex mit seinen IR-Genen in den Mittelpunkt immunologischer Forschung gerückt. Zu seiner Entdeckung führte die Beobachtung von ausgeprägten Abwehrmechanismen bei Transplantationsversuchen. Die Transplantatabstoßung unterblieb jedoch bei eineiigen Zwillingen und innerhalb von auf dieses Phänomen hin "rein" gezüchteten Mäuselinien, was die Möglichkeit eröffnete, eine Vielfalt von Mäuselinien mit definiertem genetischen Material zu

entwickeln, die sich voneinander nur durch die Transplantationsantigene unterscheiden. Inzwischen sind als Subregionen des Haupthistokompatibilitätskomplexes der Maus (H-2) auf dem Chromosom 17 nicht nur H-2K und H-2D, welche die Transplantationsantigene determinieren, sondern auch Gene, die Komplementfaktoren und solche, die Merkmale der Immunantwort (IR-Gene) determinieren, bekannt. Die I-Region des H-2-Komplexes spielt nicht nur eine Rolle bei der Immunantwort (McDevitt et al. 1972), sondern auch bei der Immunsuppression (Depré et al. 1975). Sie reguliert die Kooperation zwischen Makrophagen und T-Zellen einerseits (Rosenthal et al. 1978) und zwischen T- und B-Zellen andererseits (Katz und Benacerraf 1976), die Produktion von löslichen Helfer- und Suppressor-Faktoren (Tada et al. 1976, Mozes u. Isace 1976) und die Synthese von Zelloberflächenglycoproteinen, die als Ia-Antigene auf B-Zellen und Makrophagen bekannt sind (Klein 1979). Das MHC-Äquivalent des humanen Systems (HLA) befindet sich auf Chromosom 6 und wird unterteilt in die Regionen A, B, C, D und DR, wobei HLA-A vermutlich dem H-2K - und HLA-B dem H-2D-Locus des Maus-MHC entsprechen. Inzwischen sind diverse Allele des HLA-A-und des HLA-B-Locus identifiziert und in ihrem Polymorphismus ein Bezug zu zahlreichen Krankheiten hergestellt (Dausset u. Svejgaard 1977).

Als das wohl am häufigsten untersuchte Allel ist HLA-B27 zu nennen, das eine deutliche Korrelation zur Bechterew'schen und 'Reiter'schen Krankheit, zur juvenilen rheumatoiden Arthritis, sowie zur Salmonellen, Yersinia- und Gonokokken-Arthritis aufweist (Vogel u. Motulsky 1979). Die Vielfalt der Erreger gab zu Vermutungen Anlaß, daß eine Ähnlichkeit im molekularen Aufbau von B27 mit bestimmten bakteriellen Antigenen vielleicht zu einer Toleranz gegenüber diesen Antigenen führt. Untersuchungen, die Kreuzreaktionen zwischen B27 und Klebsiella pneumoniae und zudem eine vermehrte Klebsiellen-Ausscheidung bei akut erkrankten Patienten aufzeigten, widerlegen diese Vermutungen nicht(Roitt 1980). Immerhin ist das Risiko von Individuen, die das Merkmal B27 tragen, an einer der oben genannten Arthritis-

Formen zu erkranken, 50-80 mal so hoch wie das von Personen, deren HLA-Typisierung das B27-Merkmal nicht aufweist (Vogel u. Motulsky 1979). Weiterhin untersuchte Korrelationen sind die von HLA-B8 mit Myasthenia gravis, HLA-Dw4 mit rheumatoider Arthritis und HLA-Dw2 mit Multipler Sklerose.

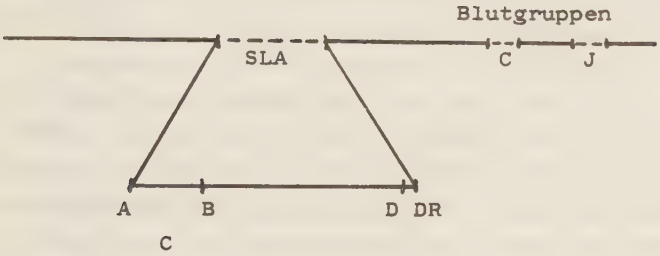
Diese Verbindung des Haupthistokompatibilätskomplexes mit der Anfälligkeit gegenüber diversen Krankheiten hat zur Suche nach MHC-Systemen bei Haustieren geführt. Beim Rind (Spooner et al. 1980, Stone 1981, Adams u. Brandon 1981), Pferd (Baily et al. 1979) und Schaf (Millot 1979) sind MHC- Systeme zwar bekannt, aber noch nicht weiter differenziert, wogegen die des Huhnes (B-Komplex) und des Schweines (SLA-Komplex) schon sehr viel genauer untersucht wurden. Trotz einer fehlenden Differenzierung der MHC von Rind (BoLA) und Pferd (ELA) sind schon Korrelationen wie die des BoLA-Systems mit Mastitis-Erkrankungen in norwegischen Milchvieh-Beständen (Lie et al. 1982, Solbu et al 1982), und die des ELA-Systems mit den Sommerekzemen der Island Ponys (Kräusslich 1982) bekannt. Der B-Komplex der Hühner wird unterteilt in drei Gen-Gruppen: B-F (entsprechend den H-2D/H-2K- Genen des Maussystems), B-L (entsprechend der H-2J-Region) und dem B-G-Locus, der ein sehr polymorphes Blutgruppensystem determiniert (Briles et al. 1982). 29 verschiedene Haplotypen, bezogen auf den F-Locus, sind inzwischen beschrieben. Deren Differenzierung gestaltet sich verhältnismäßig einfach, da die durch den F-Locus determinierten Antigene sich auch auf Erythrocyten befinden und sich deshalb leicht durch einen Hämagglutinationstest nachweisen lassen. Besonders interessant wurde das Huhn-MHC-System durch die Tatsache, daß einige Haplotypen, der bekannteste ist B21, resistent gegenüber der Marek'schen Krankheit (MD) sind (Übersicht bei Gavora u. Spencer 1979), insbesondere deshalb, weil dieser mit hohen Verlusten eingehenden Viruserkrankung mit Impfungen nur in geringem Umfang vorzubeugen ist. Des weiteren hat sich eine deutlich positive Korrelation zwischen MD-Resistenz und niedrigem Körpergewicht, früher Geschlechtsreife und

hoher Legerate, eine negative Korrelation aber in Bezug auf das Eigewicht, gezeigt (Gavora u. Spencer 1979).

Auch das Histokompatibilitätssystem des Schweines (SLA) wurde bereits genauer untersucht, insbesondere nachdem bekannt war, daß Lebertransplantate von vielen Schweinen problemlos angenommen werden, ohne eine immunsuppresive Behandlung. Dieses Phänomen der Toleranz ist bis heute noch nicht geklärt. Analog zum humanen System sind bisher fünf Loci bekannt: SLA-A, SLA-B, SLA-C, SLA-D und SLA-DR. Außerdem existiert eine enge Verbindung des SLA-Komplexes mit den C- und J-Blutgruppensystemen (Hruban et al. 1976, 1977).

SLA-A und SLA-B scheinen wie im H-2-Maussystem die Haupttransplantationsantigene zu determinieren, entsprechen also H-2D und H-2K, während die SLA-D Region die Ia-Antigene genetisch kontrolliert (Pennington et al. 1981). Betrachtet man die Transplantations- und Ia-Antigene aus biochemischer Sicht, so sind auch hier die Parallelen zum H-2- und HLA-System deutlich zu erkennen. So bestehen die Transplantationsantigene aus einer leichten ($=\beta_2$-Mikroglobulin) und einer schweren Kette, wobei letztere die Spezifitäten trägt (Molekulargewichte: 11000 und 42000 Dalton gegenüber 12000 und 32000 Dalton im H-2 und HLA-System), während sich die Ia-Antigene aus zwei gleich schweren, jeweils polymorphen Polypeptiden zusammensetzen (MG: 25000 und 31000 Dalton gegenüber 28000 und 33000 Dalton der Ia-Antigene, determiniert durch die HLA-D und H-2J Region) (Lunney u. Sachs 1978). Pennington et al. (1981) zeigten aber auch, daß, im Gegensatz zum H-2 und HLA-System 1-2 Gene außerhalb des SLA-Komplexes existieren, die eine Immunantwort bei Allotransplantaten steuern. Analogien zum HLA- und H-2-System fanden auch M. Vaiman und andere in Bezug sowohl auf Komplementgene des SLA-Komplexes (1978 a), als auch auf IR-Gene verbunden mit dem SLA-Komplex, verantworlich für die Antikörperantwort auf eine Immunisierung mit Lysozym (1978 b). Außerdem scheint auch die Anordnung der SLA-Loci die gleiche wie die der

HLA-Loci zu sein. Nach Renard et al. (1982) bietet sich folgendes Konzept an:



wobei die SLA-A, -B, -C, -DR-Antigene im Lymphocytotoxizitäts-Test, die des SLA-D Locus dagegen in der gemischten Lymphocyten kultur bestimmt werden. Aus dem Maus-System ist bekannt, daß die Typisierung mittels gemischter Lymphocytenkultur auf sogenannten Lymphocyten aktivierenden Determinanten (LAD), die als Teil der Ia-Antigene auf B-Zellen und Makrophagen T-Helferzellen aktivieren, beruht. Dagegen ist die Basis der Typisierung im Cytotoxizitätstest die Wandlung von Vorläufer T-Zellen im Lauf einer MLR zu cytotoxen T-Zellen, welche die Fähigkeit besitzen, stimulierte Lymphocyten (Blastzellen) eines unverträglichen H-2D/K-Typs zu lysieren.

Wenn auch die Verbindung zwischen dem SLA-Komplex und Anfälligkeit gegenüber Krankheiten noch nicht untersucht wurde, so ist doch eine Korrelation zwischen SLA-Haplotypen und bestimmten Produktionsmerkmalen der Schweinezucht gefunden worden, u.a. in Bezug auf Wachstumsleistung und Fettanteil des Schlachtkörpers (Capy et al. 1981, Renard et al. 1982). Im Hinblick auf die Zucht ist von Interesse, daß in den letzten Jahren verschiedene Hormonrezeptoren auf Schweinelymphocyten entdeckt worden sind, die Lymphocyten damit also eine nicht nur immunologische Funktion erfüllen.

Ein anderer Weg, die genetische Determination der immunologischen Reaktionen bei Säugetieren zu beschreiben, wurde von G.Biozzi und seinen Mitarbeitern begangen. Dazu wurde in fünf unabhängigen Selektionsexperimenten der Versuch unternommen, jeweils eine 'high-'(H) und eine 'low (L) responder' Linie von Mäusen zu züchten, von denen nach Erreichen des Selektionsmaximums (nach 7-16 Generationen) vermutet werden durfte, daß sowohl die Tiere der H- als auch die der L-Linie homozygot im Hinblick auf diejenigen Loci waren, die das Antikörperbildungsvermögen auf die jeweils benutzten natürlichen komplexen Immunogene (Schaf- und Taubenerythrocyten, Salmonellenantigene und Rinderserumalbumin abwechselnd mit Kaninchengammaglobulin) kontrollieren. Im Hintergrund dieser Versuche stand die Hypothese, daß trotz der ineinandergreifenden Funktionen von Makrophagen, T- und B-Zellen, die Steuerung der immunologischen Aktivitäten jeder dieser drei Zelltypen einer selbständigen, polygenen Kontrolle unterliegt, im Gegensatz zur monogenen Kontrolle einer Immunantwort auf eine oder nur wenige Determinanten eines "einfachen" synthetischen Antigens oder eines komplexen Antigens in minimaler Dosierung durch spezifische IR-Gene (McDevitt u. Benacerraf 1969, Mozes u. Shearer 1972). Diese Theorie wurde durch folgende Ergebnisse der Selektionexperimente bestätigt (Biozzi et al. 1979): 1. Die genetische Kontrolle der humoralen und die der zellvermittelten Immunität sind voneinander unabhängig. 2. Die genetische Steuerung der Antikörperantwort und die der Makrophagenaktivität verhalten sich entgegengesetzt. 3. Eine Gruppe von vermutlich zehn Genen kontrolliert die Antikörperantwort auf Schaf- bzw. Taubenerythrocyten, davon ist eines mit dem H-2-Komplex (Liacopoulos-Briot et al. 1972) ein anderes mit dem Immunglobulinallotyp (Biozzi et al. 1970, Liebermann et al. 1972). verbunden, d.h. nur ungefähr 20% der sogenannten 'Biozzi'schen Mäuse-Gene' sind den bisher bekannten IR-Genen zuzuordnen (Stiffel et al. 1974).

Im folgenden werden die Einzelergebnisse der Biozzi'schen Selektionsexperimente am Beispiel der Selektion auf Antikörperbildungsvermögen gegenüber Tauben- und Schafserythrocyten detailliert dargestellt:

Immunstatus der H- und L-Mäuse

Der Vergleich von H- und L-Mäusen in Bezug auf die Serumimmunglobulinkonzentration zeigt, daß die Mäuse der H-Linie deutlich zu höheren Werten neigen. Dieser Unterschied wird durch eine Immunisierung noch verstärkt: Die deutliche Steigerung der Immunglobulinwerte bei H-Mäusen erstreckt sich über alle Immunglobulinklassen (Biozzi et al. 1970, André et al. 1977, Liebermann et al. 1972), wogegen die Ig-Konzentrationen bei L-Mäusen nahezu unverändert bleiben. Diese Beobachtungen lassen sich auch auf das Gewicht der Milz, hauptsächlich zuständig für die Antikörperantwort nach einer intravenösen Immunisierung, übertragen. Auch unter Berücksichtigung anderer vom Selektionsantigen verschiedenen Antigene dominiert die Antikörperantwort der H-Mäuse gegenüber der der L-Mäuse, so in Bezug auf Immunisierungen mit heterologen Erythrocyten, Proteinen wie Hämocyanin (Unanue et al. 1974), Rinderserumalbumin (Heumann u. Stiffel 1978) und Hühnereialbumin (Prouvost-Danon 1971), mit Haptenen wie DNP (Del Guericio u. Zola 1972) und TNP (Doria et al. 1978), mit bakteriellen Polysacchariden (Howard et al. 1974), mit Histokompatibilitäts- und Tumorantigenen (Liacopoulos-Briot et al. 1972), mit Viren wie T4-Bakteriophagen (Howard et al. 1974) und Influenzavirus (Floc'h u. Werner 1978), mit bakteriellen wie Salmonellen- (Sant'anna et al. 1979) und Streptokokkenantigenen (Biozzi et al. 1979), und mit Parasiten wie Plasmodium berghei (Biozzi et al. 1978), Trypanosoma cruzi (Kierszenbaum u. Howard 1976), Leishmania tropica (Biozzi et al. 1979), Schistosoma donovani (Blum u. Cioli 1978) und Trichinella spiralis (Perrudet-Badoux et al. 1975, 1978). Die erhöhte Antikörperproduktion der H-Mäuse wird nicht nur im Verlauf einer Infektion mit den oben genannten Erregern, sondern auch nach Impfungen zur aktiven Immunisierung gegen

diese Erreger beobachtet. Bei der Erwähnung dieser Untersuchungen darf jedoch nicht vergessen werden, daß die Resistenz gegenüber bestimmten bakteriellen oder parasitären Erregern nicht durch die Immunglobulinwerte, sondern durch die Makrophagenaktivität bestimmt wird.

Der hier beschriebene antigenunabhängige, d.h. unspezifische, Effekt der Selektion führte zu den Untersuchungen der Makrophagen beider Mäuselinien, weil der ursächliche Defekt der L-Mäuse mit ihrer nur geringen Antikörperantwort an diesem Punkt des immunologischen Systems vermutet wurde. Die Makrophagen beider Linien unterscheiden sich deutlich in der Verarbeitung und Präsentation von löslichen Antigenen: Makrophagen der L-Mäuse bauen lösliche Antigene in größerem Umfang und sehr viel schneller ab als die der H-Mäuse (Wiener et al. 1974, Biozzi et al.1975). Damit wird die Präsentation des Antigens auf der Zelloberfläche für T- und B-Zellen und infolgedessen auch die Antikörperbildung mehr oder weniger eingeschränkt. Handelt es sich bei den durch die Makrophagen aufgenommenen Antigenen um lebende Bakterien, so resultiert die genetische Differenz zwischen H- und L-Mäusen in einer unterschiedlichen Kontrolle des bakteriellen Wachstums. Unabhängig von der Art des Erregers ist die Zahl der lebensfähigen Mikroorganismen im Zielorgan bei H-Mäusen um ein Vielfaches höher als in L-Mäusen (Plant u. Glynn 1980 , Lagrange et al. 1979, Cannat et al. 1978, Fuensalida-Draper 1980). Diese Beobachtungen werden am Anfang einer Infektion gemacht, im späteren Verlauf allerdings verringert sich der Unterschied zwischen den zwei Mäuselinien auf Grund der stärkeren Antikörperproduktion bei H-Mäusen.

Außerdem wurden die H- und L-Mäuselinien auf Unterschiede im Rahmen der T-Zell vermittelten immunologischen Reaktionen getestet. Die Resultate dieser Untersuchungen bestätigen die anfangs dargestellte Hypothese der genetisch unabhängig von einander gesteuerten zellvermittelten und humoralen Immunantwort.

So reagieren H- und L-Mäuse gleich oder sehr ähnlich in Bezug auf die Transplantatabstoßung (Liacopoulos-Briot 1972), die zellvermittelte Hypersensitivität vom Spättyp (Mouton et al. 1974) und die Lymphocytenstimulation in vitro mittels Phytohämagglutinin (Liacopoulos-Briot et al. 1974).

Natürliche und erworbene Infektionsresistenz bei H- und L-Mäusen

Eine künstliche Infektion mit Plasmodium berghei führt sowohl in der H- als auch in der L-Linie zu einer hohen Mortalitätsrate, die jedoch bei Mäusen der H-Linie durch eine wiederholte Immunisierung mit bestrahlten Parasiten deutlich reduziert werden kann (Heumann et al. 1979). Ein ähnliches Ergebnis bei Infektionsversuchen mit Trypanosoma cruzi weist auf die überragende Rolle der Antikörper bei solchen Infektionen hin, was weiterhin durch Versuche mit Tollwutvirus (Nilson et al. 1979) und Nematosporoides dubius (Jenkin u. Carrington 1981) bestätigt wurde. Mäuse der H-Linie sind im Hinblick auf diese Erreger deutlich den L-Mäusen überlegen. Das Gegenteil allerdings zeigt sich bei Infektionen mit Parasiten (im weiteren Sinne), die fähig sind, in Makrophagen zu überleben. Trotz der höheren Immunglobulinwerte der H-Mäuse, erweisen sich hier Mäuse der L-Linie meist von Natur her als resistenter, und in jedem Fall effektiver mit inaktivierten Erregern zu schützen, ausführlich untersucht am Beispiel von Salmonella typhimurium (Plant u. Glynn 1980 , O'Brien et al. 1980), Leishmania tropica (Hale u. Howard 1981) und Brucella abortus suis (Cannat et al. 1978). Anhand dieser Resistenzexperimente wird deutlich, daß die Selektion nach dem Biozzi'schen Konzept im Extremfall zu einer Population führt, die gegen bestimmte Erreger völlig resistent, gegen andere dagegen übermäßig sensibel reagiert.

Inwieweit lassen sich jedoch die hier beschriebenen Resultate aus dem Maus-Modell auf die praktische Haustierzucht und die heute üblichen Selektionskriterien übertragen? Diese Frage

wurde zur Grundlage unseres im folgenden beschriebenen Selektionsexperiments auf maximales Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten beim Schwein, nachdem rassenspezifische, also genetisch determinierte, Unterschiede in der Antikörperantwort auf diverse Antigene festgestellt worden waren (Radzikowsky et al. 1974, Buschmann et al. 1975).

3. Problemstellung und Lösungsweg

Angeregt durch die Erfolge bei der Selektion auf Krankheitsresistenz in der Pflanzenzucht (insbesondere Getreide) wird auch in der Haustierzucht versucht, neben den üblichen Parametern wie Fruchtbarkeit, Fleischanteil und seit kurzer Zeit auch Stressanfälligkeit, immunologische Parameter als Selektionskriterien zu bewerten. Als deutlicher Erfolg in dieser Hinsicht sei die Zuchtmöglichkeit von gegen die Marek'sche Krankheit resistenten Hühnern genannt.

Für die hier vorliegenden Untersuchungen wurde das Schwein als Versuchstier gewählt, da bereits genetisch determinierte Unterschiede in Bezug auf die Resistenz gegenüber Brucellose, Rotlauf und Schweinefieber bekannt waren (Hutt 1958). Außerdem hatten Versuche mit Schweinen aus 9 verschiedenen Rassen gezeigt, daß sowohl die Phagocytosefähigkeit von Leukocyten wie auch das Antikörperbildungsvermögen gegenüber Schafserythrocyten genetisch determiniert sind (Buschmann et al. 1974, 1976).

Als immunologischer Parameter für die Selektion wurde das Antikörperbildungsvermögen nach einer Immunisierung mit Dinitrophenyl (DNP), gekoppelt an Rinderserumalbumin als Träger, benutzt. Es handelt sich hierbei um ein oft eingesetztes, definiertes und auch einfaches Antigen, denn es ist bekannt, daß je komplexer das Antigen ist, desto komplizierter verlaufen die immunologischen Reaktionen nach einer Immunisierung.
In Vorversuchen hatte sich zwar gezeigt, daß, wie auch bei anderen Tierarten (Mäkelä und Jormalainen 1974) natürliche Antikörper existieren, daß deren Titer aber sehr gering ist (Buschmann et al. 1975).
Außerdem konnten bei einer Immunisierung von Schweinen aus acht verschiedenen Rassen mit DNP-Hapten deutliche rassenspezifische Unterschiede festgestellt werden (Buschmann et al. 1975).

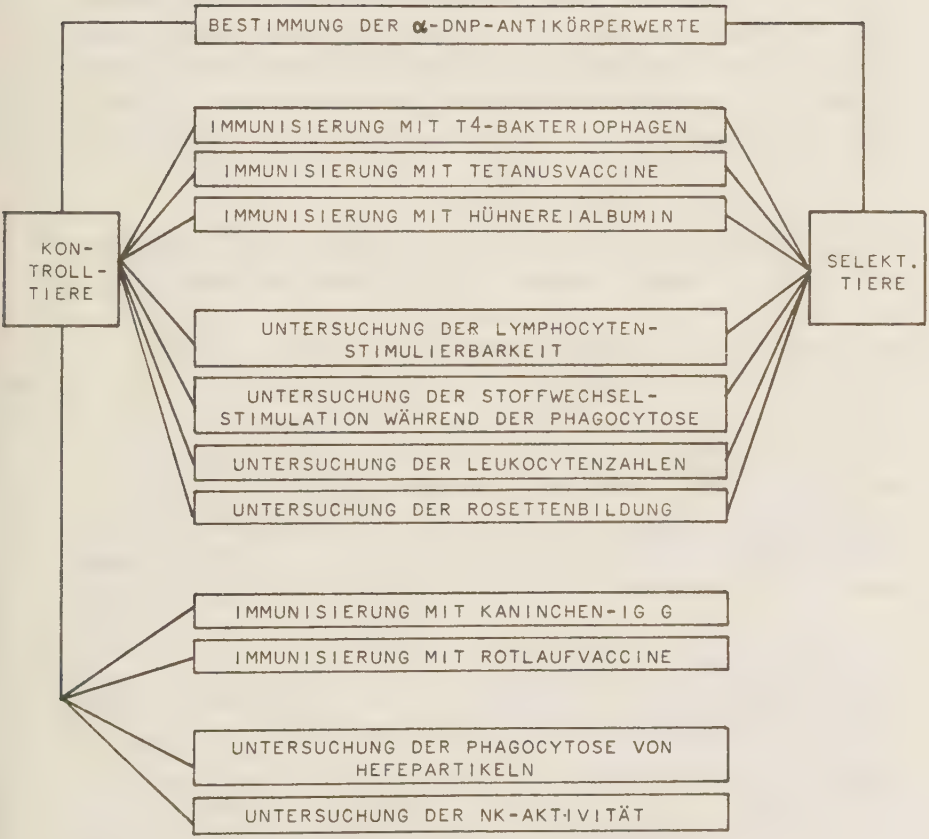
Diese Untersuchungen waren die Voraussetzung für das Selektionsexperiment auf das Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten bei Schweinen der deutschen Landrasse. Auf Grund be-

grenzter Kapazitäten auf dem Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim konnte nur auf hohe, nicht aber auf niedrige Antikörpertiter selektiert werden. Die Ferkel dieser Linie werden in den hier beschriebenen Untersuchungen 'selektierte Tiere' genannt. Als Bezugsgruppe wurde aus derselben Ausgangspopulation eine Zucht etabliert, in der nur nach den üblichen Produktions- und Leistungsmerkmalen selektiert wurde, und deren Ferkel im weiteren als Kontrolltiere bezeichnet werden.

Angeregt durch die BIOZZI'schen Versuche (Biozzi et al. 1979) deren 'high-responder' Linie auch auf andere Antigene besser als die 'low responder' Linie reagierte, wogegen in Bezug auf die zelluläre Immunität keine Unterschiede feststellbar waren, stellte sich auch uns die Frage, inwieweit zeigt die Selektion auch Einfluß auf andere Parameter des immunologischen Systems. So wurde der Immunisierungserfolg mit anderen, nicht verwandten Antigenen, aber auch Parameter des zellulären Immunsystems, wie die Stimulierbarkeit der Lymphocyten, das Phagocytosevermögen der Leukocyten und der Prozentsatz rosettenbildender Lymphocyten untersucht (Abb. 1). Da uns die Tiere nur 3 bis maximal 4 Wochen zur Verfügung standen, konnten in nur wenigen Ausnahmefällen verschiedene Parameter parallel an denselben Tieren bestimmt werden. Die für diese Experimente benötigten Untersuchungsmethoden mußten zum größten Teil für das Modell 'Schwein' erst etabliert werden, so die Immunisierungsantigene, ihre Dosierung, der Nachweis der spezifischen Antikörper, der NK- und der Hefephagocytose-Test.

Die Resultate des Selektionsexperimentes über vier Generationen und die untersuchten korrelierten Selektionsergebnisse werden in der vorliegenden Arbeit vorgestellt und diskutiert. Weiterhin wird die Folge der Selektion auf die üblichen Produktions- und Leistungsmerkmale überprüft und der Frage nachgegangen, ob es möglich ist, aus immunologischen Parametern einen Index für die Selektion auf Krankheitsresistenz abzuleiten.

Abb. 1: Darstellung des im weiteren beschriebenen Versuchsablaufes



4. Material und Methoden

4.1. Selektion auf Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten

4.1.1. Immunisierungsverfahren

Ferkel der deutschen Landrasse wurden im Alter von 42-45 Tagen mit je 60 mg DNP-BSA in 2,5 ml physiologischer Kochsalzlösung zusammen mit 2,5 ml inkomplettem Freund Adjuvans intramuskulär immunisiert. Nach vierzehn Tagen erfolgte eine Reimmunisierung mit je 100 mg DNP-BSA in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung ohne Adjuvans. Vier Tage nach der zweiten Immunisierung wurde eine Blutprobe entnommen und daraus Serum gewonnen. Zur Inaktivierung des Komplements wurde das Serum 45 Minuten bei 56°C inkubiert.

4.1.2. Herstellung des Antigens

2,84 g 2,4-Dinitrophenylsulfonsäure (Eastman Kodak, Rochester/USA) wurden in Wasser gelöst, mit 0,4 g NaOH in Substanz versetzt und an der Luft trocknen gelassen. Gereinigt wurde das im Exsikator getrocknete Salz durch Lösen in 94%igem Äthylalkohol (2 g/l Alkohol) bei 70°C im Wasserbad, anschließendem Mischen mit Aktivkohle, Filtrieren und Trocknen bei 37°C.
20 mg des so gewonnenen Salzes wurden mit 20 mg Kalium-Karbonat (E.Merck, Darmstadt) und 20 mg Rinderserumalbumin (Behringwerke AG, Marburg), jede der drei Substanzen in 1 ml Wasser gelöst, gemischt, 24 Stunden bei 37°C inkubiert, gegen Wasser dialysiert, mit 0,02 M NaOH versetzt und lyophilisiert.

4.1.3. Nachweis der Antikörper

Der anti-DNP-Antikörpertiter wurde im Bakteriophagen-Neutralisationstest gemessen. Dazu wurden Bakteriophagen mit Dinitrophenylsalz nach folgender Methode gekoppelt:
Bromaktivierte T4-Bakteriophagen wurden in einem Cäsiumchloridgradienten gereinigt (MOSSMANN, 1966). Dann wurden 1 ml Phagen (entsprechend 10^{11} plaquebildenden Einheiten, in 0,1 M Karbonatpuffer, pH 9,5) 20 Stunden mit 1 ml 2,4-Dinitro-

phenylsaurem Natrium (Eastmann Kodak, Rochester/USA) (100 mg/ml 0,1 M Karbonatpuffer) inkubiert, auf 10 ml mit Phosphatpuffergelatine (0,05 M Phosphatpuffer, pH 6,8; dazu 20 mg Gelatine/l Puffer) aufgefüllt und gegen 0,05 M Phosphatpuffer (pH 6,8) dialysiert.

Im Neutralisationstest wurden die Schweineseren in Zweierschritten verdünnt und 0,2 ml der Serumverdünnung mit 0,2 ml DNP-Phagen (etwa 500 plaquebildende Einheiten) 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden 0,2 ml einer statischen Escherichia coli B-Kultur (etwa 2×10^9 Keime pro ml) und 2,5 ml Weichagar (0,6%ig) hinzugegeben und auf Petrischalen mit einer Schicht Basisagar (1,5%ig) ausgegossen. Die Zahl der gebildeten Plaques wurde nach 24 Stunden bei 37°C abgelesen.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach ADAMS (1959) durch Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten

$$K\ (min^{-1}) = 2{,}3 \times \frac{D}{60} \times \log \frac{Po}{P}$$

wobei D für die jeweilige Verdünnung des Antiserums,
P_o für die Konzentration der gekoppelten Phagen vor der Inkubation mit Antiserum
und P für die Konzentration der gekoppelten Phagen nach der Inkubation mit Antiserum stehen.

Zum Nachweis der Antikörper-Art (Immunglobulin G oder M) wurde ein Teil der Seren mit 0,1 M 2-Mercaptoäthanol (in 0,1 M Natriumchlorid- und 0,1 M Trispuffer) in gleichen Volumina versetzt und 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Dazu wurde das gleiche Volumen 0,01 M Jodacetamid (in NaCl-Tris-Puffer) gegeben 10 Minuten inkubiert und über Nacht bei 4°C gegen 0,8%ige Natriumchloridlösung dialysiert.

Um festzustellen, ob in den Seren der mit DNP-Rinderserum-

albumin immunisierten Tiere auch Antikörper gegen Rinderserumalbumin (BSA) zu finden waren, wurde BSA auf Schweineerythrocyten gekoppelt und ein passiver Hämagglutinations-Test durchgeführt (s. Kap. 4.2.1.2.2.).

4.1.4. Selektionsverfahren

Ungefähr 100 Ferkel pro Generation standen für den Test zur Verfügung. Das Generationsintervall betrug ungefähr ein Jahr. Die Selektion wurde auf die weiblichen Tiere (mindestens ein Tier pro Wurf) mit relativ hohen K-Werten beschränkt. Um eine zu starke Inzucht zu vermeiden, mußten die Eber meist zugekauft werden, dabei wurde auf einen möglichst hohen K-Wert geachtet. Überdurchschnittlich hohe K-Werte von Seiten der Eber konnten allerdings nur in der F_o bis F_2 in die Selektion eingebracht werden.

4.2. Korrelierte Selektionsergebnisse

Bei der Suche nach korrelierten Selektionsergebnissen wurde zwischen der humoralen (spezifische Immunantwort mittels Antikörperbildung) und der zellulären Immunität (unspezifisch, vermittelt durch immunkompetente Zellen) unterschieden.

4.2.1. Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die humorale Immunität

4.2.1.1. Immunisierung mit T4-Bakteriophagen

Deutsche Landrasse-Ferkel der selektierten Linie und der Kontrollpopulation wurden mit T4-Bakteriophagen immunisiert.

4.2.1.1.1. Immunisierungsverfahren

In Vorversuchen erwies sich eine Immunisierung mit mindestens $2,5 \times 10^9$ Phagen in 5 ml bzw. 2,5 ml inkompletten Freund Adjuvans i.m. und eine zweite Immunisierung nach vierzehn Tagen mit jeweils mindestens 2×10^9 Phagen ohne Adjuvans i.m. als optimal. Vor der zweiten Immunisierung und vier Tage nach der zweiten Immunisierung erfolgten die Blutentnahmen.

4.2.1.1.2. Nachweis der Antikörper

Die Seren wurden bei 56°C Komplement-inaktiviert und anschließend im Phagen-Neutralisationstest auf Antikörper gegen T4-Bakteriophagen untersucht. Der Test verlief nach der gleichen Methode wie der Phagen-Neutralisationstest zum Nachweis von anti-DNP-Antikörpern (s. Kapitel 4.1.3.), nur wurden statt der mit DNP gekoppelten Phagen reine T4-Coliphagen eingesetzt.

Um nachzuweisen, daß die Seren nicht mit Coli-Phagen, gleich welcher Art, kontaminiert waren, wurden sie zusammen mit E.coli Bakterien auf Agar-Platten ausgegossen.

Mit Hilfe der höchstmöglichen, noch positiv reagierenden

Verdünnung der Seren bzw. der daraus errechneten K-Werte nach ADAMS (s. Kapitel 4.1.3.) wurde versucht, eine Korrelation zwischen den selektierten und den Kontroll-Tieren, bzw. zwischen den anti-DNP-Antikörpertitern und den anti-T4-Antikörpertitern herzustellen.

4.2.1.2. Immunisierung mit Tetanus-Vaccine

4.2.1.2.1. Immunisierungsverfahren

Ferkel aus der selektierten und aus der Kontroll-Population wurden mit je 1 ml Tetanus-Vaccine (Behringwerke AG, Marburg) immunisiert. Nach vierzehn Tagen erfolgte eine zweite Immunisierung mit je 1 ml Vaccine. Blutentnahmen erfolgten am Tag 14 (vor der zweiten Immunisierung) und 4 Tage nach der zweiten Immunisierung.

4.2.1.2.2. Nachweis der Antikörper

Die Komplement-inaktivierten Seren wurden im passiven Hämagglutinationstest und im ELISA untersucht (nach ANDRAE 1982).

Passiver Hämagglutinations-Test

Auf gewaschene Schweineerythrocyten (Blutgruppe O) wurde das Antigen, reines Tetanus-Toxoid der Firma Behring (Marburg) gebunden. Dazu wurden ein Volumen Schweineerythrocyten (10%ig in Kochsalzlösung) ein Volumen Glutardialdehyd (E. Merck Darmstadt, 1%ig in NaCl-Lsg.) und zwei Volumen Tetanustoxoid (unverdünnt; Behringwerke AG, Marburg) zusammengegeben und zwei Stunden bei 37°C geschüttelt. Anschließend wurden die Erythrocyten dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen, und auf eine 2%ige Lösung in NaCl und 0,02% Natriumazid gebracht. Zur Kontrolle wurden nach derselben Methode Erythrocyten mit Glutardialdehyd, ohne Toxoid, inkubiert und ebenso anschließend in eine 2%ige Suspension gebracht. Der passive Hämagglutina-

tionstest erfolgte in Mikrotiterplatten (V-Form, Greiner Labortechnik Nürtingen). Die Seren wurden in Zweierschritten verdünnt, und zu jeder Serumverdünnung das gleiche Volumen der 2%igen Erythrocyten-Suspension mit gekoppeltem Antigen bzw. die Erythrocyten ohne Antigen gegeben.

Abgelesen wurde der Test nach zwei Stunden und nach einer über Nacht Inkubation bei Raumtemperatur. Die Titerangabe bezieht sich auf die letzte Serumverdünnung, die noch zu einer Agglutination der Erythrocyten führte. Als positive Kontrolle im Test diente jeweils ein anti-Tetanus-Hyperimmunserum (Behringwerke AG, Marburg).

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Der Test wurde auf Immunolon-Platten (M129A von Dynatech, Plochingen) durchgeführt. Die Platten wurden beschichtet mit je 100 µl Toxoid, 1:10 000 verdünnt in Coating-Puffer (Karbonat-Bikarbonatpuffer pH 9,6), mit Folie abgedeckt und drei Stunden bei 37° C inkubiert. Nach einer weiteren Inkubation über Nacht bei 4° C, wurden die Platten viermal mit einer Kochsalz-Phosphat-Detergens-Lösung (8 g NaCl; 0,2 g KH_2PO_4; 2,9 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$; 0,2 g KCl; 0,5 ml Tween 20 (E. Merck Darmstadt) pro 1 Aqua dest.) gewaschen, bevor je 100 µl Antiserum in die Vertiefungen gegeben und in Zweierschritten mit der NaCl-Detergens-Lösung verdünnt wurde. Die abgedeckten Platten wurden eine Stunde bei 37° C leicht geschüttelt, fünfmal mit der oben genannten Lösung gewaschen und nach der Zugabe von je 100 µl Lactoperoxidase-Konjugat (Kaninchen-anti Schwein IgG/LPO v. Miles Lab. Ltd., Frankfurt, 1:10 000 verdünnt in dem NaCl-Phosphat-Puffer ohne Detergens) wiederum für eine Stunde bei 37° C unter Schütteln inkubiert. Danach wurde fünfmal gewaschen und je 100 µl Substrat (30%iges Wasserstoffperoxid von E.Merck Darmstadt, 1:6 000 verdünnt in einer Indikatorlösung bestehend aus 0,5 g para-Phenyldiamin/1 l folgenden Puffers: 1,2 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$; 0,19 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$; 0,37 g EDTA (Na-Salz) auf 1 l Aqua dest.) in die Vertiefungen gefüllt, 30 Minuten bei Raumtemperatur stark geschüttelt und anschließend die Extinktion bei 510 nm in einem 8-Kanal-Photo-

meter (Flow Lab. GmbH, Meckenheim) gemessen. Als Kontrolle dienten Seren von nicht immunisierten Tieren.

Mit Hilfe der Werte aus dem Hämagglutinationstest wurde versucht, eine Korrelation zwischen den α-DNP- und den α-Tetanus-Antikörpertitern herzustellen.

4.2.1.3. Immunisierung mit Hühnereialbumin

4.2.1.3.1. Immunisierungsverfahren

Ferkel der selektierten- und der Kontroll-Linie wurden mit 1-100 mg Hühnereialbumin (von Calbiochem, La Jolla USA), gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, mit oder ohne inkomplettem Freund Adjuvans i.m. immunisiert. Nach zwei Wochen erfolgte eine zweite Immunisierung mit der gleichen Menge Hühnereialbumin ohne Adjuvans und eine Blutentnahme und nach weiteren vier Tagen die letzte Blutentnahme.

4.2.1.3.2. Nachweis der Antikörper

Die Komplement-inaktivierten Seren wurden im passiven Hämagglutinationstest und im ELISA auf ihren Antikörper-Gehalt überprüft.

Passiver Hämagglutinationstest (nach AVRAMEAS 1969)

0,4 ml gewaschene, gepackte Schweineerythrocyten (Blutgruppe 0), 12 mg Hühnereialbumin in 10 ml Phosphatpuffer (0,075 M pH 7,2) und tropfenweise 0,5 ml 2,5%iges, wässriges Glutardialdehyd wurden zusammengegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Darauf folgte ein dreimaliges Waschen der Erythrocyten mit 0,125 M Phosphatpuffer (pH 7,4) und ein Aufnehmen der Erythrocyten in physiologischer Kochsalzlösung mit 0,02% Natriumazid zu einer 2%igen Suspension. Nach der gleichen Methode wurden Schweineerythrocyten mit Glutardialdehyd ohne Hühnereialbumin inkubiert. Der Test erfolgte auf Mikrotiterplatten nach der schon unter 4.2.1.2.2. beschriebenen Methode. Als Kontrolle diente ein Kaninchen-anti-Hühnereialbumin-Hyperimmunserum, das freundlicherweise von Prof. Dr. E.P. Rieber, Institut für Immunologie der LMU München, zur Verfügung gestellt wurde.

ELISA

Die Immunolon-Platten wurden beschichtet mit je 100 µl einer Lösung von 5 µg Hühnereialbumin/ml Coating-Puffer. Im Weiteren verlief der Test wie schon in Kap. 4.2.1.2.2. beschrieben.

Auch im Falle dieses Antigens wurde versucht, eine Korrelation zwischen den spezifischen und den α-DNP-Antikörpertitern herzustellen.

4.2.2. Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die zelluläre Immunität

4.2.2.1. Stimulierbarkeit der Lymphocyten durch Mitogene (nach PAWLAS 1979)

Die Gewinnung der Lymphocyten aus heparinisiertem Schweineblut verlief nach folgender Methode:

10 ml Blut wurden mit 10 ml Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) verdünnt, und in Glaszentrifugenröhrchen vorsichtig auf 20 ml eines Gemisches aus 14,1 ml Ficoll (Pharmacia, Uppsala/ Schweden, 9%ig in Aqua dest.), 2,65 ml Natriummetrizoat (Nyegaard, Oslo/Norwegen) und 3,25 ml Aqua dest., geschichtet. Anschließend wurde 30 Minuten bei 400xg zentrifugiert, die oberste Schicht aus Plasma, PBS und Thrombocyten entfernt und die Interphase, bestehend aus Lymphocyten und z.T. Makrophagen, vorsichtig abgehoben.

Die so gewonnenen Zellen wurden zweimal mit RPMI 1640 (Seromed, München), RPMI wurde grundsätzlich mit folgenden Zusätzen verwendet: 2,5 mM Hepes (Serva Feinbiochemica/ Heidelberg); 2 ml Bykomycin (Byk Gulden, Konstanz); 1,68 ml Kanamycin (Albrecht, Aulendorf) und 10% foetalem Kälberserum auf 1 l Medium, gewaschen (10 min/500xg) und mittels einer Thoma-Zählkammer auf 7×10^5 Zellen/ml eingestellt. Der Prozentsatz der lebenden Zellen wurde durch eine Färbung mit Trypanblau (1%ig in PBS) bestimmt.

1 ml dieser Zellsuspension wurden mit je 1 ml einer Mitogenverdünnung in RPMI 1640 in Zellkulturröhrchen (Nunclon, Dänemark) pipettiert und zwei Tage bei 37° C inkubiert. Von jeder verwendeten Mitogenverdünnung wurden mindestens fünffach-Ansätze gemacht. Folgende Mitogene wurden benutzt:

-Phytohämagglutinin (PHA) aus Phaeseolus vulgaris
(Wellcome Res. Lab., Beckenham/England)

-Concanavalin A (Con A)
(Pharmacia, Uppsala/Schweden)

-Pokeweed Mitogen (PWM) aus Phytolacca americana
(Serva, Heidelberg)

-Lipopolysaccharide W (Methode Westphal)
von Salmonella typhosa (LPS)
(Difco Lab., Detroit/USA)

Als Kontrollen dienten Ansätze ohne Mitogene. Nach 48 Stunden wurde jeder Ansatz mit 0,1 µl (U-^{14}C)-Thymidin (Spezifische Aktivität: 500-600 mCi/mMol; von Radiochemical Centre Ltd., Amersham/England) markiert und weitere 24 Stunden bei 37° C inkubiert.

Anschließend wurde der Inhalt jedes Röhrchens über Millipore-Filter AP 2002500 mittels eines Zellernte-Gerätes (Millipore Corp., Bedford/USA) filtriert, jedes Röhrchen mit
2 x 2 ml PBS
2 x 2 ml 7%iger Trichloressigsäure
und 2 x 2 ml Methanol
gespült und diese Spülflüssigkeit ebenfalls filtriert. Dann wurden die Filter in Szintillationsröhrchen (Zinser, Frankfurt) überführt und 30 Minuten bei 80° C getrocknet, bevor die Röhrchen mit je 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Unisolve I, Zinser) aufgefüllt, gekühlt und im Flüssigkeitsszintillationszähler (Nuclear Chicago) die eingebaute Radioaktivität gezählt wurde. Aus den Fünffach-Werten wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen, und aus den Mittelwerten die Stimulationsindices berechnet:

$$\text{Stimulationsindex } S_i = \frac{\bar{x} \text{ Proben (mit Mitogen)}}{\bar{x} \text{ Kontrollen (ohne Mitogen)}}$$

4.2.2.2. E- und EAC-Rosetten (nach PAWLAS 1979)

4.2.2.2.1. E-Rosetten

Zum Versuch einer quantitativen Bestimmung von T-Zellen mittels E-Rosetten wurden $2x10^6$ Schweinelymphocyten in 1 ml inaktiviertem foetalen Kälberserum, das zuvor zweimal mit je 1/10 Volumen Schafserythrocyten absorbiert worden war, suspendiert. Nach Zugabe von 1 ml einer 1%igen Suspension von

Schafserythrocyten in RPMI 1640 wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, 5 Minuten bei 200 x g zentrifugiert und über Nacht bei 4°C nochmals inkubiert. Nach vorsichtigem Resuspendieren der Zellen wurden fünf Tropfen einer 0,5%igen Toluidinblaulösung in PBS hinzugegeben und nach 15 Minuten der Prozentsatz rosettenbildender Lymphocyten in der Zählkammer bestimmt. Nur Lymphocyten mit mindestens drei an der Oberfläche angelagerten Erythrocyten wurden als positiv gewertet.

4.2.2.2.2. EAC-Rosetten

Gewaschene Schafserythrocyten wurden 5%ig in PBS aufgenommen, mit dem gleichen Volumen eines Kaninchen-anti Schafserythrocyten-Serums (1:1000 verdünnt in PBS) gemischt und 30 Minuten bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Anschließend wurden die Erythrocyten zweimal mit PBS gewaschen, 5%ig in Hanks-Balanced-Salt-Solution (Oxoid Ltd. Basingstoke, Hants/England) aufgenommen und mit dem gleichen Volumen Mausserum, welches zweimal mit Schafserythrocyten absorbiert und 1:10 in PBS verdünnt worden war, als Komplementquelle wiederum für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Darauf folgte ein dreimaliges Waschen der Erythrocyten in PBS und die Herstellung einer 0,5%igen Suspension in Hanks' Lösung.

Im Versuch zur quantitativen Analyse von B-Lymphocyten wurden 0,1 ml dieser Schafserythrocyten-Suspension mit 0,1 ml ($= 2x10^5$) Schweinelymphocyten-Suspension in RPMI 1640 gemischt und nach einer 30-minütigen Inkubation bei 37°C zentrifugiert (5 Minuten 200 x g). Die Zellen wurden vorsichtig resuspendiert, mit einem Tropfen Toluidinblaulösung gemischt und nach 15 Minuten in die Zählkammer zur Bestimmung des Prozentsatzes rosettenbildender Zellen eingebracht. Wiederum wurden nur Lymphocyten mit mindestens drei an der Oberfläche angelagerten Erythrocyten als positiv gewertet.

4.2.2.3. Phagocytosefähigkeit der Leukocyten

Die Phagocytosefähigkeit von Schweineleukocyten wurde anhand

der Stimulation des Glucose-^{14}C-Stoffwechsels bei der Phagocytose von Bakterien (Escherichia coli oder Staphylococcus epidermidis) bestimmt (nach Keusch et al. 1973). Dazu wurden 0,2 ml Vollblut, 0,1 ml Bakteriensuspension ($2x10^8$/ml physiologischer Kochsalzlösung, abgetötet durch Inkubation über 30 Minuten bei 70°C und 0,0893 µCi D-(1-^{14}C) Glucose (Radiochemical Centre Ltd., Amersham/England) in 1 ml Hanks Balanced Salt Solution in einen 35 ml Erlenmeyer-Kolben, mit einem herausnehmbaren kleinen Glaszylinder, gegeben. Die Kolben wurden verschlossen und 30 Minuten bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Anschließend wurden 1 ml 2 N Salzsäure und 0,4 ml Hyaminhydroxid (Koch-Light Lab., Colnbrook Bucks/England) zum Auffangen des entstehenden Kohlendioxids durch den Stopfen injiziert und weitere 30 Minuten bei 37°C geschüttelt. Dann wurden die Glaszylinder mit der Hyaminhydroxidlösung in Szintillationsfläschchen transferiert, diese mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Ready-Solv NA, Beckmann, München) aufgefüllt, gekühlt und die Radioaktivität im Szintillationszähler (Nuclear Chicago) bestimmt. Aus den Werten der Ansätze mit Bakterien (P) und der Kontrollansätze ohne Bakterien (R) wurde ein Index (P/R) gebildet.

4.2.2.4. Bestimmung der Leukocytenzahl

Heparinisiertes Blut wurde zur Lyse der Erythrocyten 1:10 mit Eisessig verdünnt, sodaß die Zahl der verbliebenen Leukocyten in einer Zählkammer bestimmt werden konnte.

4.3. Weitere immunologische Parameter für die Untersuchung der korrelierten Selektionsergebnisse

Um die immunologischen Reaktionen des Schweines noch umfassender als durch die bisher beschriebenen Parameter darzustellen, wurden weitere Immunreaktionen auf ihre mögliche Eignung als Selektionskriterien geprüft.

4.3.1. Reaktion auf eine Immunisierung mit Kaninchenimmunglobulin G (Kan IgG)

Nach der Methode von DIETZEL u. GEIGER (1964) wurde IgG mittels Rivanol (Asid, Unterschleißheim) und Ammoniumsulfat (E. Merck, Darmstadt) aus komplettem Kaninchenserum gewonnen.

Nachdem die Reinheit des Kaninchenimmunglobulins G in einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese überprüft worden war, konnten vier Ferkel mit diesem Antigen immunisiert werden. Bei zwei Tieren wurde das Antigen durch Hitzeaggregatien bzw. Alaunpräzipitation vorbehandelt, um seine immunogene Wirkung zu erhöhen (nach BIOZZI et al. 1979), die beiden anderen Tiere erhielten das Kaninchen-IgG mit bzw. ohne komplettes Freund Adjuvans. Nach einer Woche erfolgte eine Blutentnahme und eine zweite Immunisierung mit einer der ersten Immunisierung entsprechenden Form des Antigens und nach weiteren drei Tagen eine letzte Blutentnahme. Der Antikörpergehalt der Komplement-inaktivierten Seren wurde im passiven Hämagglutinationstest festgestellt, entsprechend der Methode zum Nachweis von anti-Hühnereialbumin-Antikörpern (s. Kap. 4.2.1.3.2.). Als Kontrolle diente ein Schwein - anti-KanIgG - Hyperimmunserum.

4.3.2. Antikörperantwort auf eine Immunisierung mit Rotlauf-Vaccine

Ferkel der deutschen Landrasse wurden zum Teil mit Rotlauf-Adsorbat-Vaccine (Behringwerke AG, Marburg), zweimal nach An-

weisung des Herstellers, und zum Teil mit formalininaktivierten Rotlauferregern (Erysipelothrix rhusiopathiae), zweimal im Abstand von zwei Wochen (bei der ersten Immunisierung zusammen mit 2,5 ml inkomplettem Freund Adjuvans), immunisiert. Blutentnahmen fanden vor der ersten, vor der zweiten und vier Tage nach der zweiten Immunisierung statt. Der Nachweis der spezifischen Antikörper in den Komplement-inaktivierten Seren wurde im Bakterizidie-Test, im passiven Hämagglutinationstest und im ELISA versucht.

Als positives Kontrollserum stand ein Schwein - anti Rotlauf - Hyperimmunserum (Asid, Unterschleißheim) zur Verfügung.

4.3.3. Phagocytose von Hefepartikeln durch Leukocyten (nach LEHRER u. CLINE 1969)

Die Phagocytosefähigkeit von Leukocyten kann nicht nur anhand von Stoffwechselveränderungen beurteilt werden (s. Kap. 4.2.2.3.), sondern auch direkt mittels der Anzahl von phagocytierten und damit abgetöteten Keimen.

Dazu wurden zwei Volumen heparinisiertes Schweineblut und ein Volumen 6%iges Dextran T70 (Pharmacia, Uppsala/Schweden) gemischt und in eine 10 ml-Einmalspritze gefüllt. Nach einer einstündigen Inkubation der senkrecht stehenden Spritze bei 37°C waren die Erythrocyten sedimentiert, sodaß das leukocytenreiche Plasma leicht über eine gebogene Kanüle entfernt werden konnte. Nach zweimaligem Waschen der Leukocyten (10 min/100 x g) mit Hanks'Lösung wurde eine Konzentration der Leukocyten von 7×10^6 pro ml Hanks'Lösung eingestellt. Als die zu phagocytierenden Teilchen diente eine Suspension von Bäckerhefezellen, ebenfalls eingestellt auf 7×10^6 Zellen pro ml physiologischer Kochsalzlösung.

Im Test wurden die gleichen Volumina (je 62 µl) Leukocytensuspension, Hefesuspension, Hanks'Lösung und Serum desselben Tieres als Komplementquelle unter starkem Schütteln für eine Stunde bei 37°C inkubiert. Danach wurden die Leukocyten durch Zugabe von 62 µl einer 2,5%igen Natriumdesoxycholat (E. Merck, Darmstadt)-Lösung in Wasser (pH8,7) lysiert und die abgetöteten Hefepartikel durch Hinzufügen von 1 ml eiskalter 0,01%iger Methylenblaulösung angefärbt. Nach einer zehnminütigen Zentrifugation bei 400 x g konnten der Überstand verworfen, die Hefezellen in dem verbleibenden Volumen gründlich resuspendiert und in eine Zählkammer zur Bestimmung des Anteils von abgetöteten Zellen an der gesamten Hefeanzahl eingebracht werden. Um Vergleiche zu ermöglichen, wurden jeweils 300 Hefezellen ausgezählt.

Als Kontrollen dienten Ansätze ohne Leukocyten.

4.3.4. Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen

Die spezifische Cytotoxizität von Schweinelymphocyten gegenüber Zellen der Tumorlinie K 562 (humane chronische myelogene Leukämie) wurden im sogenannten NK (Natural Killing) - Test untersucht. In diesem Fall mußte auf heterologe Zielzellen ausgewichen werden, da Schweinetumorzellinien nicht bekannt sind und aus früheren Untersuchungen (LEIBOLD et al. 1980) ein positives Ergebnis in Bezug auf diese Konstellation vermutet werden durfte.

Für den Test wurden 2 x 10^6 K562-Zellen in 100 µl RPMI 1640 mit 10% foetalem Kälberserum mit Hilfe von 100 µCi ^{51}Cr in NaCl-Lsg. (New England Nuclear, Boston/USA) während einer einstündigen Inkubation bei 37°C radioaktiv markiert. Nicht gebundenes ^{51}Cr konnte durch zweimaliges Waschen der Zellen (5 min/100 x g) mit RPMI 1640 entfernt werden, bevor diese Tumorzellsuspension auf 5 x 10^4 Zellen pro ml Medium eingestellt wurde.

Als Effektorzellen dienten durch Ficollierung (s. Kap. 4.2.2.1.) gewonnene Schweinelymphocyten, eingestellt auf 5×10^6 Zellen pro ml Medium.

Je 100 µl Zielzell- und Effektorzellsuspension wurden im Verhältnis 1:100, 1:50, 1:25 und 1:12,5 zusammen in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte gegeben, 5 bzw. 22 Stunden bei 37°C und 5% CO_2 inkubiert, bevor 100 µl des Überstandes vorsichtig abgenommen, abgefüllt und zur Zählung der freigesetzten Radioaktivität in einen γ-Counter (Nuclear Chicago) gegeben wurden.

Als Kontrollen dienten Ansätze ohne Effektorzellen mit 100 µl Medium (spontaner Cr-Release) und Ansätze ohne Effektorzellen mit 100 µl 5%igem wässrigen Triton X-100 (E. Merck, Darmstadt) zur Lyse der Zielzellen (maximaler Cr-Release). Jeder Versuch wurde mindestens dreifach angesetzt. Das Ergebnis wurde in "%standardisiertem spezifischen Release" (SSR) angegeben und berechnet nach der Formel

$$\% \text{ SSR} = \frac{cpm_{Test} - cpm_{spont.}}{cpm_{max.} - cpm_{spont.}} \times 100$$

wobei cpm für die im γ-Counter gemessenen 'counts per minute' steht.

5. Ergebnisse

5.1. Selektion auf Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten

Das Selektionsexperiment auf Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten wurde über 4 Generationen durchgeführt. Selektiert wurde nur "aufwärts", d.h. nur Tiere mit relativ hohen K-Werten, soweit andere Zuchtaspekte, z.B. die Vermeidung zu starker Inzucht, es zuließen, wurden für die Weiterzucht verwendet. Aus dem letztgenannten Grund wurde die Selektion auf weibliche Tiere, und zwar mindestens ein Tier pro Wurf, beschränkt. Bei den männlichen Tieren, die meist zugekauft werden mußten, wurde darauf geachtet, daß diese Tiere einen möglichst hohen K-Wert aufwiesen. Dies war leider nur in den ersten Generationen möglich, wodurch die Zahl der eingesetzten Eber auf ein bis drei Tiere pro Generation begrenzt wurde.

Als Kontrollen dienten Tiere einer Population, die aus derselben Ausgangspopulation - allerdings im Hinblick auf die üblichen Produktions- und Leistungsmerkmale - etabliert wurde.

Tab. 1A-E zeigen die K-Werte der einzelnen Tiere von der F_o bis zur F_4. Dabei wurden die weiblichen Tiere, die als Muttertiere für die folgende Generation selektiert waren, gekennzeichnet. Bei der Betrachtung der Häufigkeitsverteilung der K-Werte (Tab. 2) und insbesondere der graphischen Darstellung dieser Verteilung (Abb. 2), fällt eine deutliche Verschiebung der K-Werte zugunsten höherer Antikörpertiter im Verlauf der Selektion von der F_o bis zur F_4 auf.

Da auch die Mittelwerte der Kontrollpopulation (Zeittrend) anstiegen (Tab. 4), wurde geprüft, ob die passive Übertragung von Antikörpern der immunisierten Muttertiere (F_3) auf ihre Nachkommen (F_4) eine Rolle spielte. Die Untersuchung von 50 Ferkeln der F_4 ergab jedoch sehr niedrige K-Werte ($0{,}0262 \pm 0{,}0260$), woraus geschlossen wurde, daß dem mütterlichen Transfer von Antikörpern keine Bedeutung zukam.

Tab. 1A: K-Werte der Ferkel in der F_o
(* = Muttertiere der F_1)

Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert
1	0,37	34*	0,59	67	0,79	100	0,34
2	0,15	35	0	68	0,50	101	0,47
3	0,17	36	0	70*	1,40	102	0,35
4	0,27	37	0	71	0,38	103	0,97
5	0,94	38	0	72	0,14	104	0,05
6	0,27	39	0,26	73	0,50	105*	0,84
7	0,75	40	0,02	74	0	106*	0,58
8	0,20	41	0,05	75	0	107	0,28
9	0	42	0,01	76*	1,15	108*	0,42
10	0,48	43	0,05	77	0,14	109	0
11	0,46	44	0,23	78	0,23	110	0,24
12	0,12	45	0,09	79	1,03	111	0,34
13	0,12	46	0,13	80	0,28	112*	0,78
14	0,49	47	0,05	81	0,17	113	0,15
15	0,18	48	0,02	82	0,14	114	0,09
16	0,26	49	0	83	0,17	115	0,08
17	0,29	51	0,16	84	0,34	116*	0,46
18	0,12	52	0,59	85	0,42	117*	0,76
19	0,40	53	0,27	86	0,65	118	0,16
20	0,21	54	0,66	87*	0,84	119	0,09
23	0	55	0,29	88	0,08	120*	0,73
24	0	56	0,33	89	0,21	121	0,34
25	0,03	57	0,69	90*	1,20	122	0,09
26	0,04	59	0,39	91	0,65	123	0,43
27	0	60	0,18	93	0,07	124	0,69
28	0,05	61	0,45	94	0,04	125*	0,89
29	0	62	0,15	95	0,14	126*	0,83
30	0	63	0,33	96*	1,32	127	0,24
31	0	64	0,43	97	0,09	128*	0,93
32	0	65	0,18	98	0,04	129	0,23
33	0	66*	0,74	99	0,05		

Tab. 1B: K-Werte der Ferkel der selektierten Population in der F_1
(* = Muttertiere der F_2)

Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert
971/03	1,58	374/01	2,71	/04*	2,43	/06	1,05
/04	0,27	/02	1,11	/05*	1,50	/08	3,25
/05*	1,28	/03	1,97	/06	0,38	353/01	1,79
/06*	1,09	/04	2,71	358/07	0,49	/02	0,12
/07*	0,18	/05	0,02	/08	0,25	/03	0,92
/08	0,88	361/01	0,19	364/02	0,32	/05	0,98
/09	2,48	/02	0,30	/03	0	/06	0,68
370/04	2,11	/08*	1,67	/04	1,38	/07	1,19
/05	0,91	362/03	0,30	367/01	0	/08	0,38
/07	0,51	/04	0,39	/02*	2,44	/10	0,36
/08	0,05	/06	0	/03	0,08	/11	2,12
/09	1,83	/07	0,11	/04	0,20	354/01	0,15
/10*	1,95	/08*	1,25	/05	0	/03	2,33
/11	1,0	363/02	0,18	/06*	0,55	/05	1,16
/12	2,02	/04	0	925/04	0,96	/06*	1,33
/13	0,42	/06*	0,49	/05	0,55	/07*	0,52
371/04	0,62	871/02	0,09	/06	0,30	350/01	0,48
/05	0,33	/04	0,04	/07	0,15	/02	1,00
/09	0,74	/05	1,71	/08	0,39	/03	1,63
/10*	0,49	/06	0,96	/09	0,06	/04	0,51
972/01	2,71	/07*	0,88	340/01	0,38	/05	1,41
/03	0,97	/08	0,73	/02	0	/06	0,54
/05*	1,54	/09	1,77	/03	0,49	/07	0,83
/06	0,23	358/01	0,73	/04	0,89	/08	2,11
/07	1,39	/02	1,22	/05	1,34	/09*	2,48

Tab. 1 C: K-Werte der Ferkel der selektierten Population in der F_2
(* = Muttertiere der F_3)

Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert
146	2,20	184	1,83	232	0,15	277	0,98
147	2,68	185	1,46	233	0,24	278	1,61
148	2,84	186	2,50	234	0,39	279	0,68
149	3,05	187*	2,77	235	0,70	280*	3,39
150	1,95	188	2,13	236	0,28	281	0,30
151	2,47	189	3,14	237	1,58	282*	2,15
152*	2,47	190	2,50	239	0,69	283	0
153*	3,05	201	1,69	240	0,31	284	0,20
154	2,15	202	2,99	241	0,02	285	0
155	2,84	203	1,85	243	1,11	286	0,58
156	0,49	204	2,32	244	0,86	287	0,18
157	3,05	205	0,54	245	0,46	288	0,41
158	2,20	206	0,16	246	2,07	289	0,25
159	1,28	207	0,41	247	3,35	290*	2,67
161*	3,42	208	0,59	248	0,31	291	0
162	1,71	210	0,80	249	2,77	292	0,18
163	2,32	211*	2,40	250	0,55	293	1,56
164	2,84	212	0,51	251*	3,35	294	0,39
165	1,73	213	0,25	253	0,14	295	0,77
166	1,00	214	3,36	254	1,73	297	0,26
167	1,29	215	1,76	255	0,62	298	0,15
169	0,69	216*	2,32	256	1,87	299	0,26
170	1,46	217	2,69	257	2,77	300*	1,36
171	0,95	219	0,85	258	1,62	305	0,87
172	0,90	220	1,58	259	2,77	306	0,84
173*	1,53	221	2,35	260	0,78	307	0
174	1,46	222	1,62	261	0,44	310	2,30
175	1,46	224	1,51	262	2,40	311	1,97
176	1,34	225	1,79	270	1,38	321	1,84
178	0,88	226	0,39	271	3,02	322	2,67
179	1,40	227	0,51	272	1,27	324	1,88
180	0,65	228	1,13	273*	1,53	325	2,67
181	1,40	229	0,14	274	1,74	326	2,67
182	1,00	230*	0,80	275	2,28		
183	1,25	231	0	276	2,65		

Tab. 1 D: K-Werte der Ferkel der selektierten Popualtion in der F_3
(* = Muttertiere der F_4)

Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert
327	1,97	351*	1,80	376	4,81	404*	2,87
328	1,82	352	4,34	378	7,02	405*	2,34
329	2,51	353	5,08	379*	9,40	406	1,04
331*	5,02	354	5,08	380	10,62	407	1,22
332*	3,10	355	2,17	381	3,38	408	2,34
333	2,73	357*	2,54	382	2,64	409	2,44
334	3,10	358	17,38	383	1,46	410	2,00
335	3,10	359	2,54	384	6,03	413	2,77
336	2,24	360	2,54	387	3,38	414	2,58
337	8,96	361	21,01	388	1,50	416	2,22
338	10,91	362*	26,93	389*	2,64	417*	2,34
339	4,71	363*	16,00	390	2,87	419	12,89
340	2,24	364	3,51	392	3,24	420	3,01
341*	0,88	365	6,29	393	2,87	421	12,02
342	1,38	366	2,93	394*	10,78	422	3,22
343*	10,91	367	3,51	395	12,16	423	2,64
344	2,36	369*	3,51	396	2,87	424	3,59
345	2,24	370	2,48	397	3,24	425	25,78
246	1,95	371	2,15	398	3,24	426*	6,44
347	2,54	372	10,62	399	3,24	427	3,22
348	1,95	373	3,14	400	12,16		
349	2,45	374*	7,03	401	3,24		
350*	1,95	375	5,85	403	2,50		

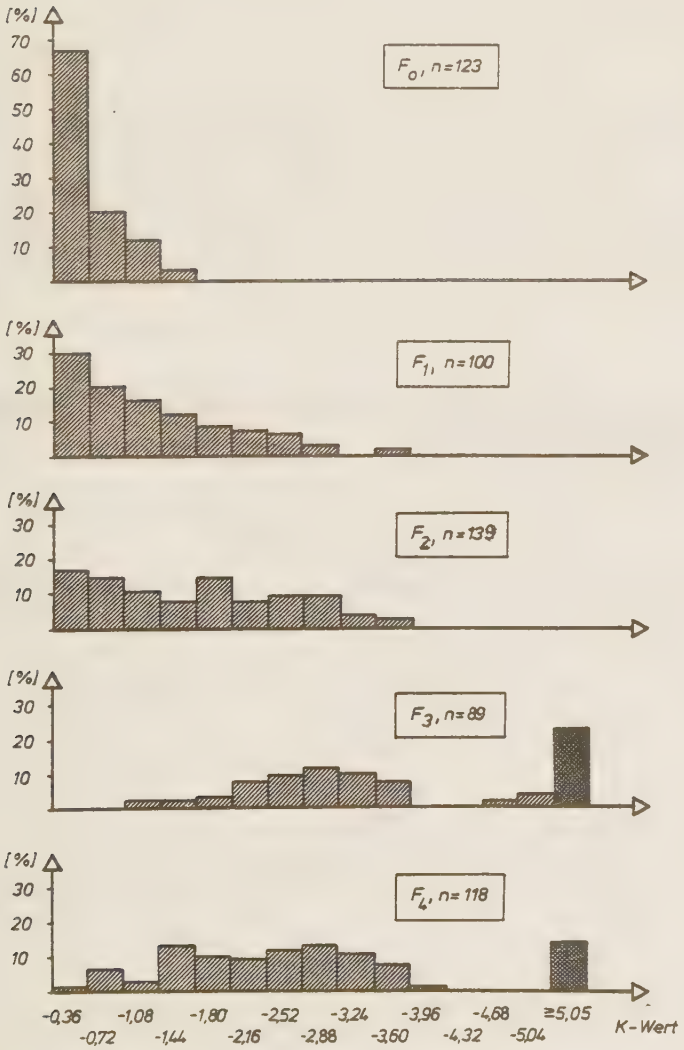
Tab. 1 E: K-Werte der Ferkel der selektierten Population in der F_4

Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert	Tier-Nr.	K-Wert
428	1,27	461	1,69	493	3,06	526	2,34
429	2,27	462	2,88	494	1,33	527	0,63
430	1,08	463	2,61	495	2,85	528	2,13
431	0,70	464	1,20	496	3,06	533	2,28
432	2,01	465	2,88	497	13,74	536	11,42
433	1,53	466	2,17	498	13,16	537	3,42
534	10,67	467	0,96	499	2,70	538	1,55
535	2,20	468	1,32	500	2,92	539	2,87
436	1,73	469	1,61	501	2,43	540	6,48
437	2,15	470	2,15	502	5,84	541	1,11
439	2,79	471	2,69	504	3,29	542	1,01
440	6,77	472	2,15	505	2,70	543	2,65
441	12,06	473	2,47	506	3,29	544	6,48
442	3,01	474	5,68	507	1,36	549	1,77
443	3,38	475	13,70	508	2,92	550	1,84
444	3,38	476	1,46	509	11,68	551	1,86
445	1,94	477	2,15	510	1,27	552	2,13
446	1,69	478	2,06	512	3,12	535	1,40
447	0,54	479	2,47	513	2,38	545	1,16
448	3,38	480	1,73	514	0,02	555	2,47
449	3,01	481	1,43	515	1,34	557	1,64
450	6,77	482	3,06	516	0,60	558	2,17
451	0,86	484	1,66	517	2,53	559	2,99
453	2,64	485	6,87	518	0,89	561	1,24
455	2,21	486	6,13	519	0,07	563	0,50
456	0,43	488	3,06	521	1,37	564	1,40
457	2,34	489	3,43	522	3,70	565	2,62
458	2,53	490	3,43	523	0,66	566	2,72
459	2,64	491	3,43	524	2,30		
460	1,37	492	1,52	525	0,78		

Bereich der K-Werte	F_0 n=123	F_1 n=100	F_2 n=139	F_3 n=89	F_4 n=118
0,00-0,36	81(65,9%)	28(28%)	23(16,5%)		2(1,7%)
0,36-0,72	24(19,5%)	20(20%)	20(14,4%)		8(6,8%)
0,72-1,08	14(11,4%)	16(16%)	14(10,1%	2(2,2%)	4(3,4%)
1,08-1,44	4(3,3%)	12(12%)	11(7,9%)	2(2,2%)	16(13,6%)
1,44-1,80		8(8%)	21(15,1%)	3(3,4%)	12(10,2%)
1,80-2,16		7(7%)	11(7,9%)	7(7,9%)	11(9,3%)
2,16-2,52		5(5%)	14(10,1%)	14(15,7%)	13(11,0%)
2,52-2,88		3(3%)	14(10,1%)	15(16,9%)	15(12,7%)
2,88-3,24			6(4,3%)	12(13,5%)	12(10,2%)
3,24-3,60		1(1%)	5(3,6%)	6(6,7%)	9(7,6%)
3,60-3,96				< 28(31,5%)	1(0,8%)
3,96-4,32					
4,32-4,68					
4,68-5,04					
≤ 5,05					15(12,7%)

Tab. 2: Häufigkeitsverteilung der K-Werte von Schweinen der selektierten Population

Abb. 2: Häufigkeitsverteilung der K-Werte von Schweinen der selektierten Population



Desgleichen fand sich bei keinem dieser F_4-Ferkel ein anti-BSA-Titer vor oder nach der Immunisierung mit DNP-Rinderserumalbumin. Es handelt sich in diesem Fall also um eine spezifische Hapten-Immunreaktion.

Um zu erfahren, ob die gemessenen Antikörper der IgG- oder der IgM-Klasse angehören, wurden die Seren nach einer Mercaptoäthanol-Behandlung, in deren Verlauf IgM-Moleküle dissoziieren, ebenfalls im Phagenneutralisationstest geprüft. Tab. 3 zeigt, daß die Seren einen Großteil ihrer Antikörperaktivität durch diese Behandlung verloren, die anti-DNP-Antikörper also vor allem der IgM-Klasse zuzuordnen sind.

Tab. 3: K-Werte von anti-DNP-Seren, vor und nach einer Mercaptoäthanol-(ME)-Behandlung

Serum Nr.	K-Wert	
	vor ME-Behandlung	nach ME-Behandlung
1	12,16	0,65
2	12,16	0,38
3	3,38	1,10
4	6,03	1,26
5	1,50	1,03
6	1,36	0
7	1,84	0

Die in Tab. 4 dargestellten mittleren K-Werte erläutern den Selektionserfolg auf das Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten von der F_o zur F_4. Um die K-Werte der Eber mit denen der zur Selektion herangezogenen Sauen vergleichen zu können, wurden sie nach der Zahl der Paarungen gewichtet. Auffallend ist, daß der Selektionserfolg mit der Einbringung von niedrigen Eber-Werten in der F_3 abfällt; dagegen von Generation zu Generation ansteigt, solange, gemessen an der Gesamtpopulation, Eber mit hohen K-Werten für die Weiterzucht herangezogen werden. Trotz der von der F_3 zur F_4 abnehmenden mittleren K-Werte, lassen die Werte der Tab. 4 die Aussage zu, daß eine Selektion auf hohes Antikörperbildungsvermögen möglich ist: Setzt man die Werte der Kontrolltiere in der F_4 gleich 100%, so erhält man für die der selektierten Tiere in der F_4 einen Wert von 164%.

Eine genauere Darstellung dieser Ergebnisse wird durch die Berechnung der Selektionsdifferenzen (D) und der Selektionserfolge (E), dargestellt in Tab. 5, möglich. Die Selektionsdifferenz bezeichnet dabei das Verhältnis der Werte der zur Weiterzucht herangezogenen Tiere zum mittleren Wert der Population, bezogen auf eine Generation. Der Selektionserfolg dagegen beschreibt die Differenz der mittleren Populationswerte zweier aufeinanderfolgender Generationen. Tab. 5 zeigt, daß trotz des negativen Selektionsdifferenz-Wertes der für die Zucht der F_4 herangezogenen Eber und des negativen Selektionserfolges der F_4, von einem positiven Selektionserfog (E = 1,15), gemessen über alle Generationen, gesprochen werden kann.

Auf eine Schätzung der Heritabilität wurde auf Grund der starken Streuung der K-Werte innerhalb einer Generation und innerhalb der Familien verzichtet.

Generation	n	$\bar{x} \pm s_D$	selektiert und gepaart weiblich n	$\bar{x} \pm s_D$	männlich n	$\bar{x}$*	Nachkommen der selektierten Paare weiblich n	$\bar{x} \pm s_D$	männlich n	$\bar{x} \pm s_D$
0	123	0,32±0,32	17	0,85±0,28	3	14,32				
1			18	1,28±0,71	2	21,18	59	1,01±0,81	41	0,84±0,76
2			15	2,34±0,80	2	3,34	71	1,50±1,00	68	1,42±0,97
3	16	1,30±0,98	18	6,47±6,55	2	1,94	52	5,46±6,12	37	4,53±3,04
4	15	1,81±1,74					60	3,09±2,91	59	2,83±2,60

* Nach der Zahl der Paarungen gewichtet; s_D = Standardabweichung

Tab. 4: Durchschnittliche K-Werte der Schweine in den Generationen 0 bis 4

Generation	D bzw. E	weiblich	männlich	männlich und weiblich ($\bar{x}$)
0	D	0,53	14,0	7,27
1	E	0,69	0,52	0,61
	D	0,27	20,34	10,31
2	E	0,49	0,58	0,54
	D	0,84	1,92	1,38
3	E	3,96	3,11	3,54
	D	1,01	-2,59	-0,79
4	E	-2,37	-1,70	-2,04
0-4	E*)	1,28	1,02	1,15

* Bereinigt für den Zeittrend in der Kontrollpopulation

Tab. 5: Selektionsdifferenzen (D) und Selektionserfolge (E) in den Generationen 0 bis 4

5.2. Korrelierte Selektionsergebnisse

5.2.1. Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die humorale Immunität

5.2.1.1. Immunisierung mit T4-Phagen

Da Schweine, verglichen mit anderen Versuchstieren, schlechte Antikörperbildner sind, mußte ein Dosis-Response-Vorversuch für die Immunisierung mit T4-Bakteriophagen unternommen werden. Tab. 7 zeigt, daß die Dosis für einen messbaren Antikörper-Titer ungefähr bei 10^8 Phagen liegt, und daß bei einer höheren Dosierung nicht die Menge der Phagen, sondern die gleichzeitige Gabe von inkomplettem Freund Adjuvans (IFA) bei der 1. Immunisierung ausschlaggebend für den Antikörper-Titer ist.

Für die weiteren Immunisierungen wurde deshalb nach dem Schema, das in Tab. 6 dargestellt ist, verfahren.

Tab. 6: Verlauf einer Immunisierung mit T4-Phagen

Tag 0	: Blutentnahme und Immunisierung mit $2{,}5 \times 10^9$ Phagen in 2,5 ml (oder 5 ml) Karbonatpuffer und 2,5 ml (oder 5 ml) inkomplettem F.A.
Tag 14	: Blutentnahme und Immunisierung mit 2×10^{12} Phagen in 5 ml Karbonatpuffer
Tag 18	: Blutentnahme

In Vorversuchen an 30 Schlachthof-Schweinen war außerdem nachgewiesen worden, daß es keine natürlichen oder kreuzreagierenden Antikörper gegen T4-Phagen gibt.

Tier-Nr	Dosis	Antikörpertiter		
		Blutentnahme vor der Immunisierung	Blutentnahme 14 Tage p. 1. Immunisierung	Blutentnahme 5 Tage p. 2. Immunisierung (= 19 Tage p. 1. Imm)
1	$1x10^6$ mit IFA	0	0	0
2	$1x10^6$ mit IFA	0	0	0
3	$1x10^7$ mit IFA	0	0	0
4	$1x10^7$ mit IFA	0	0	1:2
5	$2x10^8$ mit IFA	0	1:32	1:256
6	$2x10^8$ ohne IFA	0	1:8	1:16
7	$2x10^9$ mit IFA	0	1:32	1:256
8	$2x10^9$ ohne IFA	0	1:8	1:32
9	$1x10^{12}$ mit IFA	0	1:64	1:128

Tab. 7: Antikörper-Titer nach einer Immunisierung mit T4-Phagen in Abhängigkeit von der Dosis

Vergleich zwischen Tieren der selektierten - und der Kontroll-Population nach einer Immunisierung mit T4-Phagen.

20 Tiere der selektierten Linie und 19 Tiere der Kontrollpopulation wurden nach dem in Tab.6 genannten Schema (mit je 5 ml IFA) immunisiert. Die Seren wurden im Phagen-Neutralisations-Test untersucht und aus den Titern die K-Werte gebildet (s. Kap. 4.1.3.). Aus Tab. 8 geht hervor, daß die Tiere der selektierten Linie, sowohl nach der ersten wie auch nach der zweiten Immunisierung höhere K-Werte aufweisen als die Tiere der Kontrollpopulation; wegen der hohen Variation der Werte ist der Unterschied jedoch nicht signifikant.

Tab. 8: K-Werte im Serum von Ferkeln nach ein- und zweimaliger Immunisierung mit T4-Phagen

	selektierte Tiere		Kontrolltiere	
	n	K-Wert	n	K-Wert
1. Blutentnahme 14 Tage nach der 1. Immunisierung	20	0,30 ± 0,28	16	0,20 ± 0,35
2. Blutentnahme 4 Tage nach der 2. Immunisierung	19	8,18 ± 6,08	16	6,69 ± 5,38

Vergleich von anti-DNP- und anti-T4-K-Werten

23 Ferkel der selektierten Linie, deren anti-DNP-Titer zuvor bestimmt worden war, wurden mit T4-Bakteriophagen (+2,5 ml IFA) immunisiert und die jeweiligen anti-DNP- und anti-T4-Titer in Form der K-Werte gegenübergestellt (Tab. 9). Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r nach der Formel

$$r = \frac{\sum x_1 \cdot x_2}{\sqrt{\sum x_1^2 \cdot \sum x_2^2}},$$

ergibt einen Wert von r = 0,74 für den Vergleich T4-Wert-1.Entnahme und einen Wert von r = 0,83 für den Vergleich T4-Wert-2. Entnahme, jeweils bezogen auf den DNP-Wert. Nach SNEDECOR (1956) handelt es sich in beiden Fällen um eine hoch signifikante Korrelation bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%.

Tab. 9: Vergleich von anti-DNP- und anti-T4-K-Werten

Ferkel-Nr.	T4-K-Wert		DNP-K-Wert
	14 d nach 1. Imm.	4 d nach 2. Imm.	
208	0,78	1,28	1,01
210	0,09	0,48	2,07
213	1,47	4,31	5,31
214	0,50	0,80	0,46
215	0,19	0,69	1,62
216	0,33	0,35	2,99
217	0	1,02	0,44
218	0	1,57	2,07
220	0,07	0,50	1,70
221	0,51	1,93	0,76
222	0,91	1,35	2,45
224	0,12	0,48	2,21
225	1,80	3,30	0,57
226	0,56	1,38	1,90
230	1,80	2,02	1,68
231	0,74	2,48	2,32
232	0,56	2,70	1,80
233	0,48	1,28	2,32
234	2,04	3,07	3,12
235	1,30	1,30	1,13
236	2,33	3,23	2,12
239	0,63	2,39	0,60
240	1,56	2,04	2,45

5.2.1.2. Immunisierung mit Tetanus-Vaccine

19 Ferkel der selektierten Linie und 18 Tiere der Kontrollpopulation wurden mit Tetanus-Vaccine nach dem vorgeschlagenen Schema des Herstellers immunisiert. Die Seren wurden im passiven Hämagglutinationstest und im ELISA auf ihren Antikörpergehalt gegen Tetanustoxoid untersucht. Im ELISA dienten die Seren von zehn nicht immunisierten Tieren als negative Kontrollen mit einem Absorptionsbackground von 0,3, d.h. alle Werte >0,3 galten als positiv. Um leichter vergleichen zu können, wurden die Titerwerte logarithmiert (-10 x log conz., wobei conz.= Titer des Serums im Test). Der ELISA-Versuch verlief mit dem Ergebnis, daß die Tiere der selektierten Linie sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Immunisierung einen minimal höheren Titer als die Tiere der Kontrollpopulation aufweisen (Tab. 10).

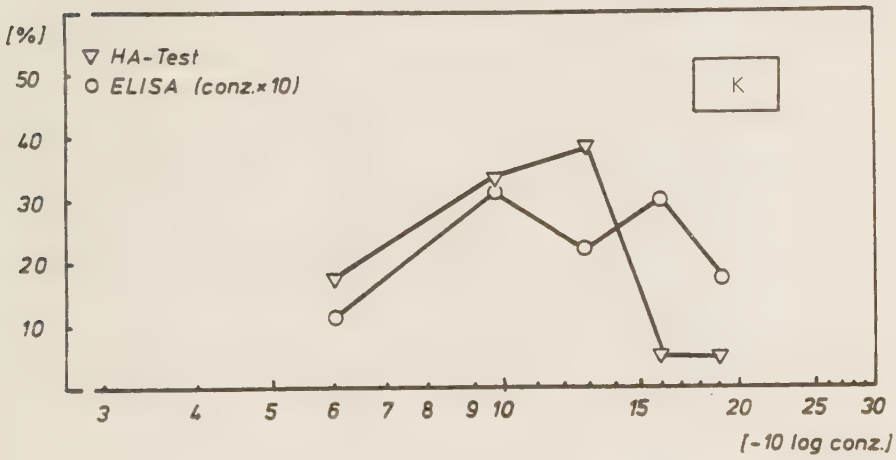
Die Häufigkeitsverteilung der Antikörperwerte, dargestellt in Abb. 3, läßt keine Unterschiede zwischen der selektierten- und der Kontroll-Population erkennen. Auffallend allerdings ist, daß die Antikörperwerte der selektierten Tiere nach der ersten Immunisierung eine deutlichere Übereinstimmung im Vergleich zwischen Hämagglutinationstest und ELISA zeigen als die der Kontrolltiere.

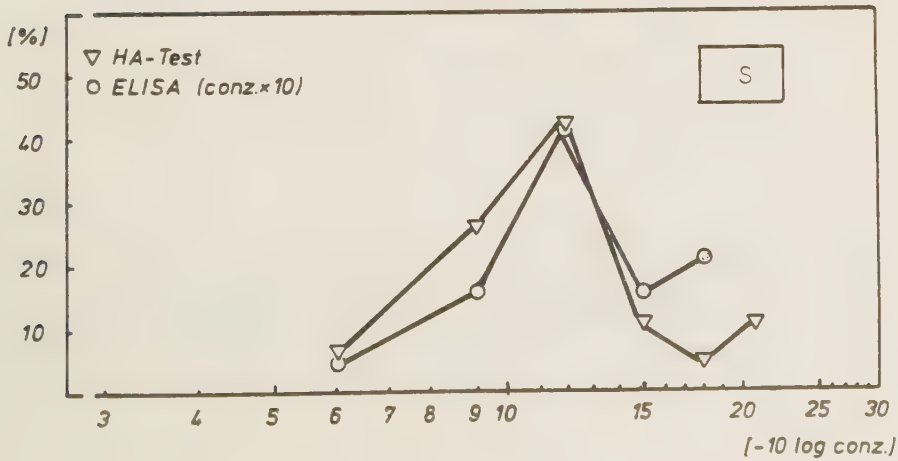
Der Selektionserfolg im Hinblick auf ein dem DNP- nicht verwandten Antigen, der Tetanus-Vaccine, wird deutlicher bei einer Gegenüberstellung der jeweiligen Antikörpertiter. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r (s. 5.2.1.1) aus den Werten der Tab. 11 ergibt sowohl für den Vergleich DNP-Tetanus 1. Imm. (r =0,78) als auch für den Vergleich DNP-Tetanus 2. Imm. (r =0,79) eine hoch signifikante Korrelation bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%.

	selektierte Tiere				Kontrolltiere			
	n	1. Entnahme 14 d p. 1. Imm.	n	2. Entnahme 4 d p. 2. Imm.	n	1. Entnahme 14 d p. 1. Imm.	n	2. Entnahme 4 d p. 2. Imm.
HA-Test	19	12,51 ± 4,1	19	17,39 ± 2,8	18	10,54 ± 3,1	16	17,49 ± 2,5
ELISA	19	22,99 ± 3,5	18	27,06 ± 2,7	18	21,87 ± 3,9	16	24,29 ± 1,7
Pferd - anti Tetanustoxoid - Hyperimmunserum im HA-Test: 36,12 (Titer 1:4096)								

Tab. 10: Antikörper-Titer (logarithmiert) von Ferkeln nach einer Immunisierung mit Tetanus-Vaccine, gemessen im passiven Hämagglutinations (HA)- und ELISA-Test

Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der Antikörpertiter (logarithmiert) gegen Tetanustoxoid bei selektierten (S)- und bei Kontrolltieren (K)





Tab. 11: Vergleich zwischen ∠-DNP- und ∠-Tetanus Vaccine-Werten

Tier-Nr.	DNP K-Wert	Tetanus-Vaccine AK-Titer (log. HA-Test)	
		p.1.Imm.	p.2.Imm.
358	0,71	9,03	15,05
360	0,28	9,03	21,07
361	1,72	21,07	24,08
362	2,09	12,04	18,06
363	0,47	21,07	21,07
364	1,39	15,05	18,06
367	1,76	12,04	18,06
368	0,52	9,03	18,06
372	0	12,04	15,05
376	1,76	9,03	15,05
377	0,60	12,04	15,05
378	0,36	15,05	18,06
379	0,22	18,06	21,07
380	0,10	12,04	15,05
381	0,06	6,02	15,05
382	0,28	9,03	9,03
383	0,95	12,04	15,05
384	1,51	12,04	15,05
385	1,39	12,04	15,05

Die Existenz von natürlichen oder kreuzreagierenden Antikörpern gegen Tetanustoxoid wurde durch die Untersuchung von 35 Seren von nicht immunisierten Tieren im Hämagglutinationstest ausgeschlossen.

5.2.1.3. Immunisierung mit Hühnereialbumin

Da für Dosis-Response-Vorversuche keine Tiere zur Verfügung standen, wurde die bei kleinen Versuchstieren gebräuchliche Dosis von 1 mg bei Immunisierungen mit Fremdeiweiß auf das Körpergewicht der Ferkel (ca. 20 kg) umgerechnet. 19 Ferkel der selektierten Linie und 18 Ferkel der Kontrollpopulation wurden mit der so geschätzten Menge von 100 mg Hühereialbumin ohne Adjuvans immunisiert. Die Seren dieser Tiere wurden zunächst im passiven Hämagglutinationstest untersucht. Auf Grund der nur sehr niedrigen Antikörper-Titer (Tab. 8) wurden dieselben Seren im empfindlicheren ELISA-Test geprüft. Im ELISA dienten 7 Seren von nicht immunisierten Tieren als negative Kontrollen mit einem Absorptionsbackground von 0,17, d.h. alle Werte $\geq$ 0,17 galten als positiv. Um die Antikörper-Titer besser miteinander vergleichen zu können, wurden die Werte logarithmiert (10 x log conz, wobei conz. = Titer im Hämagglutinationstest oder ELISA). Beide Versuche verliefen mit dem Ergebnis, daß die Seren der selektierten Tiere einen minimal höheren Titer zeigten als die Seren der Kontrolltiere (Tab. 12).

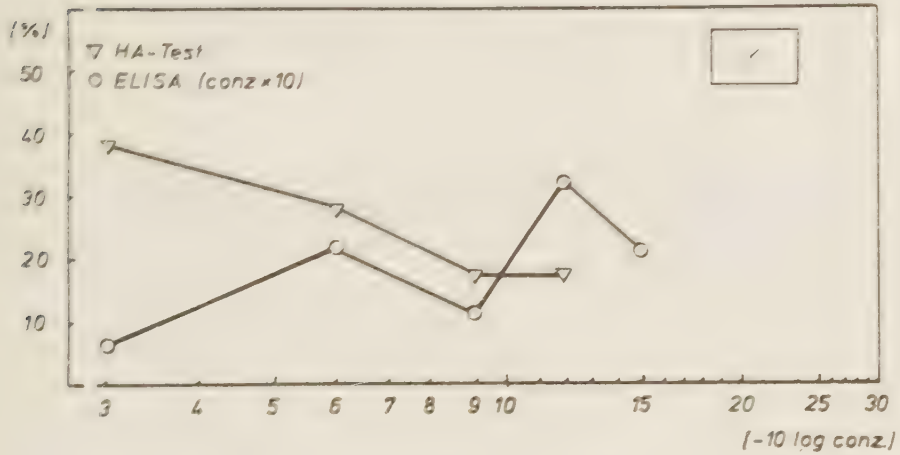
Tab. 12: Antikörper-Titer (logarithmiert) von Ferkeln nach einer Immunisierung mit Hühnereialbumin, gemessen im passiven Hämagglutinations (HA) - und ELISA-Test

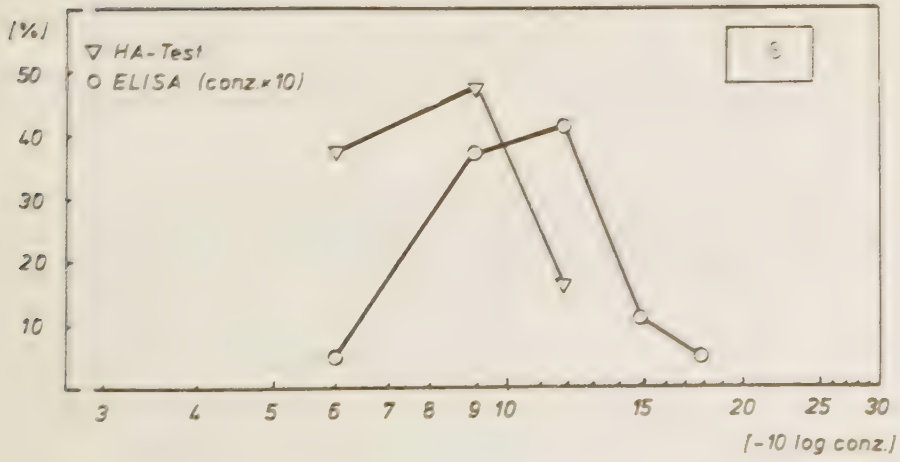
	Selektierte Tiere		Kontrolltiere	
	n	AK-Titer ($\bar{x} \pm s_D$)	n	AK-Titer ($\bar{x} \pm s_D$)
HA-Test	19	8,4 $\pm$ 2,1	18	6,4 $\pm$ 3,4
ELISA	19	21,3 $\pm$ 2,8	18	19,9 $\pm$ 4,4
Kaninchen - anti Hühnereialbumin - Hyperimmunserum im HA-Test: 28,1 (= 1:640)				

Deshalb wurde der Versuch unternommen, Unterschiede in Bezug auf die Häufigkeitsverteilung der Antikörperwerte in den zwei Populationen festzustellen. Eine sichere Aussage läßt die geringe Anzahl von 18 bzw. 19 Versuchstieren nicht zu. Abb. 4 zeigt jedoch deutliche Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der Antikörperwerte, so gruppieren sich 80% der Werte von selektierten Tieren, sowohl im ELISA, als auch im HA-Test, um den Mittelwert im Gegensatz zu nur 45% der Werte von den Kontrolltieren.

Der Selektionserfolg im Hinblick auf ein dem DNP- nicht verwandten Antigen, d.h. Hühnereialbumin, wird deutlicher bei einer Gegenüberstellung der jeweiligen Antikörpertiter. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r (s. 5.2.1.1) aus den Werten der Tab. 13 ergibt eine hoch signifikante Korrelation (r =0,74) für den Vergleich von -DNP- und α-Hühnereialbumin-Titern bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%.

Abb. 4: Häufigkeitsverteilung der Antikörpertiter (logarithmiert) gegen Hühnereialbumin bei selektierten (S)- und bei Kontrolltieren (K)





Tab. 13: Vergleich zwischen α-DNP- und α-Hünereialbumin-Werten

Tier-Nr.	DNP K-Wert	Hühnereialbumin AK-Titer (log.,ELISA)
472	2,15	22,04
473	2,47	22,04
475	13,70	22,04
484	1,66	19,03
490	3,43	19,03
491	3,43	19,03
493	3,06	22,04
497	13,74	19,03
498	13,16	22,04
499	2,70	22,04
501	2,43	28,06
512	3,12	22,04
515	1,34	25,05
522	3,70	22,04
528	2,13	16,02
530	2,28	19,03
535	2,28	19,03
538	1,55	22,04
540	6,48	25,05
544	6,48	19,03

Spätere Dosis-Response-Versuche zeigten, daß geringere Dosen von Hühnereialbumin bei der zweimaligen Immunisierung, wobei bei der 1. Immunisierung jeweils 2,5 ml inkomplettes Freund Adjuvans mitinjiziert werden, zu sehr viel höheren Antikörperwerten führen. So konnten bei Immunisierungen mit 1-25 mg Hühnereialbumin Werte von 36,1 - 30,1 im passiven Hämagglutinationstest nachgewiesen werden (Tab. 14). Deshalb wird bei weiteren Versuchen in Zukunft nur noch mit kleinen Mengen Hühnereialbumin und inkomplettem Freund Adjuvans immunisiert werden.

Tab. 14: Logarithmierte Antikörpertiter nach einer Immunisierung mit Hühnereialbumin in Abhängigkeit von der Dosis

Ferkel Nr.	Dosis bei der 1. Imm. (+IFA) bei der 2. Imm. (-IFA)	AK-Titer (log) im HA-Test 14 d p. 1. Imm.	4 d p. 2. Imm.
1	1 mg	24,1	30,1
2		27,1	33,1
3	5 mg	30,1	36,1
4		30,1	33,1
5	10 mg	30,1	33,1
6		33,1	26,1
7	25 mg	27,1	33,1
8		30,1	33,1

Auch in Bezug auf dieses Antigen wurde anhand von 20 Kontrollseren vom Schlachthof nachgewiesen, daß es keine natürlichen oder kreuzreagierenden Antikörper gegen Hühnereialbumin gibt.

5.2.2. Korrelierte Selektionsergebnisse in Bezug auf die zelluläre Immunität

Wie aus Tab. 15 ersichtlich ist, zeigten sich in Bezug auf Parameter der zellulären Immunität, die alle anhand einer Blutprobe bestimmt wurden, keine signifikanten Unterschiede zwischen Tieren der selektierten Linie und Tieren der Kontrollpopulation. Die Signifikanz der Unterschiede wurde mit Hilfe des 't-Testes' nach folgender Formel berechnet:

$$t_{(n_1+n_2-2)} = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 (n_1+n_2-2)}{(n_1+n_2) \cdot \Sigma x^2}}$$

ad 1: Die Zahl der Leukocyten, als Maß für immunkompetente Zellen, wird durch die Selektion nicht verändert.

ad 2: Auch die Zahl der rosettenbildenden Zellen als angenähertes Maß für den Prozentsatz von T- und B-Lymphocyten bleibt trotz Selektion unverändert. Allerdings ist der Fehler bei diesen Untersuchungen als recht hoch anzusetzen, worauf auch die hohe Standardabweichung hindeutet, da das Ergebnis u.a. abhängt von dem Alter und der Herkunft der Schafserythrocyten, was im Laufe dieser Versuche nicht zu standardisieren war.

ad 3: Die Frage nach einer Erhöhung der Phagocytosefähigkeit der Leukocyten durch die Selektion kann auf Grund der hohen Standardabweichung bei den Versuchen mit Escherichia coli nicht beantwortet werden. Aber die Versuche mit Staphylococcus epidermidis mit einer sehr viel schwächeren Streuung lassen die Vermutung zu, daß die Selektion auf hohes Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP ohne Einfluss auf die Phagocytosefähigkeit der Leukocyten geblieben ist.

ad 4: Die sehr hohen Standardabweichungen im Lymphocytenstimulations-Test sind zum einem eine Folge der Methodik des Mäkro-Tests - inzwischen wurde der Mikro-Test auf Mikrotiterplatten etabliert, der zu exakteren Ergebnissen führt - und zum anderen beeinflusst durch die sehr unterschiedlichen Reaktionen von Lymphocyten desselben Tieres in Untersuchungen über längere Zeiträume. Letzteres gilt

Tab. 15: Parameter der zellulären Immunität von Tieren der selektierten Linie und von nichtselektierten Tieren der Kontrollpopulation

Parameter	selektierte Linie $\bar{x} \pm s_D$	n	Kontrolltiere $\bar{x} \pm s_D$	n	Signifikanz ($p \leq 0,05$)
K-Wert der anti-DNP Antikörperreaktion	3,74±2,34	19	1,14±0,97	17	s.
1. Zahl der Leukocyten im Blut	14,46±3,68 x 10^6/ml	19	14,2 ±3,52 x 10^6/ml	16	n.s.
2. E-Rosettenbildenden Lymphocyten (%)	36,58±5,92	19	34,94±6,83	17	n.s.
2. EAC-Rosettenbildenden Lymphocyten (%)	23,0±11,22	9	21,1 ±8,45	10	n.s.
3. Phagocytoseindex bei Verwendung von Staph. epidermidis	5,39±1,54	11	5,28±1,26	12	n.s.
E.coli	5,94±4,63	11	6,21±4,78	12	n.s.
4. Lymphocytenstimulationsindex S_i bei folgenden Mitogenen					
PHA (10 µg)	201,38	19	202,30	17	n.s.
PHA (25 µg)	179,02	17	176,53	17	n.s.
ConA (10 µg)	187,78	18	195,18	17	n.s.
ConA (50 µg)	111,47	17	109,43	17	n.s.
PWM (10 µg)	192,20	18	183,76	17	n.s.
PWM (20 µg)	173,67	18	169,43	17	n.s.
LPS (0,5 mg)	2,98	15	4,45	17	n.s.
LPS (1,0 mg)	4,21	18	5,80	17	n.s.

n.s. = nicht signifikant
s. = signifikant

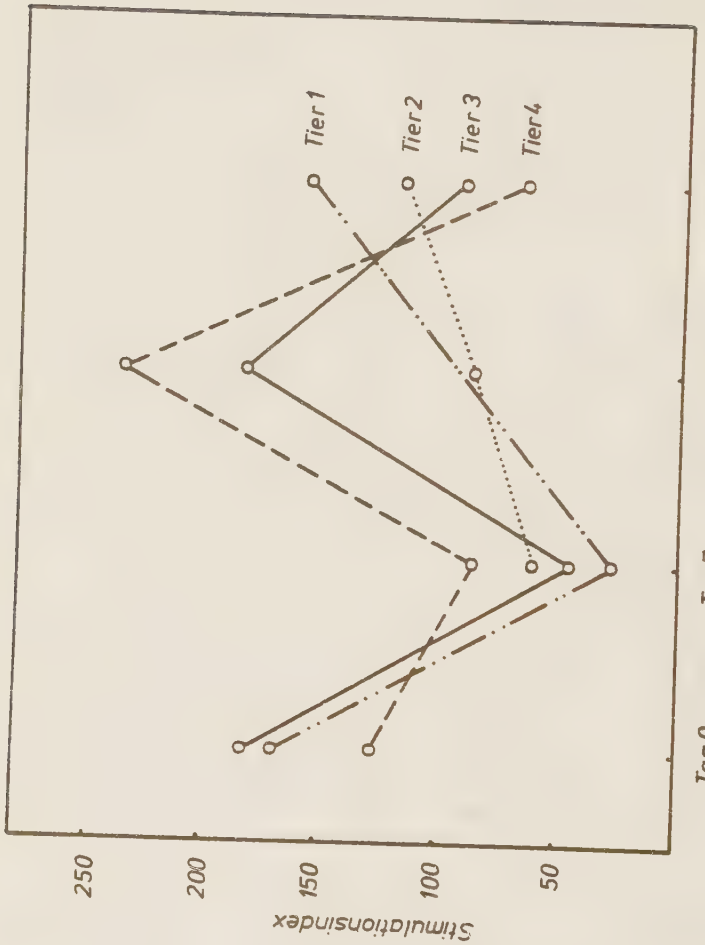


Abb. 5: Lymphocytenstimulierbarkeit mit Concanavalin A bei Blutentnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten

besonders für die Stimulation von Lymphocyten mit ConA (Abb. 5). Im Hinblick auf die Ergebnisse in Tab. 15 läßt sich jedoch auch hier vermuten, daß die Selektion auf das Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP ohne Wirkung auf die mitogene Stimulierbarkeit der Lymphocyten geblieben ist, da die Mittelwerte der beiden Populationen trotz der starken Streuung der Einzelwerte relativ nahe beeinander liegen.

5.3. Weitere immunologische Parameter für die Untersuchung der korrelierten Selektionsergebnisse

5.3.1. Reaktion auf eine Immunisierung mit Kaninchenimmunglobulin G (KanIgG)

Nur die Seren der mit dem hitzeaggregierten bzw. alaunpräzipitierten KanIgG immunisierten Tiere zeigten im passiven Hämagglutinationstest einen minimalen Titer (1:8 bzw. 1:16, nach der zweiten Immunisierung), wogegen in den Seren der Tiere, denen unbehandeltes KanIgG injiziert worden war, trotz dem in einem Fall verwendeten Adjuvans, kein Titer nachweisbar war. Der Titer des Hyperimmunserums, welches als Kontrolle diente, lag bei 1:512. Da zudem die zwei letztgenannten Tiere wenige Stunden nach der zweiten Injektion verendeten, was unter Umständen im Zusammenhang mit schon früher festgestellten Fällen von Serumkrankheit bei Schweinen nach der Immunisierung mit artfremdem Gammaglobulin (SCHLIESSER u. BUSCHMANN 1968) zu sehen ist, wurde auf die weitere Anwendung dieses Antigens im Rahmen des Selektionsversuches verzichtet.

5.3.2. Antikörperantwort auf eine Immunisierung mit Rotlauf-Vaccine

Der Bakterizidie-Test, der auf dem Prinzip der Neutralisation von bakteriellen Keimen durch spezifische Antikörper beruht, erwies sich zum quantitativen Nachweis von anti-Rotlauf-Antikörpern als nicht geeignet, da nicht reproduzierbar. Deshalb wurde versucht, die Seren der immunisierten Tiere im passiven Hämagglutinationstest zu prüfen. Wurde dazu auf Rotlauf-Vaccine (Behringwerke AG, Marburg) als Kopplungs-'antigen' zurückgegriffen, so zeigten alle Seren, auch die der Tiere vor der Immunisierung einen 'unendlich' hohen Antikörpertiter, wahrscheinlich auf Grund einer totalen Vernetzung der Indikatorerythrocyten durch das in der Vaccine enthaltene Aluminiumhydroxid. Wurde dagegen versucht, inaktivierte

Rotlauferreger als 'Antigen' auf die Erythrocyten zu koppeln, so konnte in keinem Serum ein spezifischer Antikörpertiter festgestellt werden.

Aus diesem Grund wurden für einen weiteren Versuch vier Ferkel mit inaktivierten Rotlauferregern immunisiert und ihre Seren im ELISA auf mit diesen Erregern beschichteten Mikrotiter platten überprüft. Allerdings mußte bei diesem Test ein erheblicher unspezifischer 'Background' in Kauf genommen werden. So zeigten 22 beliebige Schweineseren bei einer Verdünnung von 1:100 einen Extinktionswert bei 510 nm von $\pm$ 0,2. Wurden Seren von immunisierten Tieren in Bezug auf diesen Wert gemessen, so ergaben sich jedoch Titerwerte von 1:3200 bis 1:12 800, was dem 32-128fachen Wert der Kontrollseren entspricht, und zudem ein Titerwert des Hyperimmunserums von 1:30 000, dem 300-fachen der 'Negativ'seren.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß sich der ELISA, nach entsprechenden Verbesserungen, durchaus für den Nachweis von anti-Rotlauf-Antikörpern eignet, und dieses Antigen damit für die Untersuchung immunologischer Reaktionen beim Schwein herangezogen werden kann.

5.3.3. Phagocytose von Hefepartikeln durch Leukocyten

Eine Untersuchung an 20 Blutproben von 'ausgewachsenen', schlachtreifen Schweinen zeigte, daß Zellen des peripheren Schweineblutes in der Lage sind, 35-70% einer Hefezellsuspension zu phagocytieren und abzutöten, bei einem Mischungsverhältnis von 1:1 (Hefezellen:Leukocyten) und einem mittleren negativen Kontrollwert von 6%.

Veranlaßt durch dieses Ergebnis folgte eine Untersuchung verschiedener Rassen auf dieses Phänomen mit dem Resultat,

daß deutlich siginifikante Unterschiede in der Phagocytose von Hefepartikeln bei den drei untersuchten Rassen existieren (Tab. 16) und damit eine genetische Determination dieses immunologischen Merkmals vermutet werden darf.

Die relativ niedrigen Werte im Vergleich zu den eingangs erwähnten 35-70% bei Schlachthofblutproben sind unter Umständen darin begründet, daß es sich bei den im Rassenvergleich untersuchten Ferkeln um recht junge Tiere (etwa 10 Wochen alt) handelte.

Tabelle 16: Vergleich der mittleren Phagocytosefähigkeit von Leukocyten verschiedener Schweinerassen

Rasse	Anzahl der untersuchten Tiere	$\bar{x}$ (%) abgetöteter Hefezellen
Dt. Landrasse	17	36,7 ± 2,4
Dt.Edelschwein	10	34,1 ± 2,7
Pietrain	12	25,9 ± 2,7

5.3.4. Aktivität der natürlichen Killer (NK-) Zellen

20 zufällig ausgewählte Schweine vom Schlachthof wurden auf die cytotoxe Wirkung ihrer Lymphocyten untersucht und die so erhaltenen standardisierten spezifischen Cr-Release-Werte (SSR) in vier Kategorien eingeteilt:

0-10% SSR - keine cytotoxe Aktivität
11-25% SSR - niedrige cytotoxe Aktivität
25-50% SSR - mittlere cytotoxe Aktivität
>50% SSR - hohe cytotoxe Aktivität

Ordnet man die Werte der 20 untersuchten Tiere diesen Kategorien zu, so erhält man folgende Häufigkeitsverteilung: 10% der Proben zeigen keine, 10% eine niedrige, 60% eine mittlere und 20% eine hohe cytotoxische Aktivität (Tab. 17), allerdings erst nach einer Inkubationsdauer von 22 Stunden. Bei der kürzeren Inkubationszeit von 5 Stunden liegen die Werte aller Tiere unter 15%.

Tab. 17: Häufigkeitsverteilung der SSR-Werte von 20 Proben im NK-Test

Bereich der SSR-Werte	Prozentsatz der getesteten Proben
0-10%	10%
11-25%	10%
26-50%	60%
>50%	20%

Zur Kontrolle wurde in demselben Test die Probe eines humanen Spenders, der eine bekannt hohe cytotoxische Aktivität gegenüber K562 besitzt, mituntersucht. Sie zeigte eine mittlere bis hohe Aktivität von 55% SSR.

Da 60% der Tiere Werte von 26-50% SSR, die damit in einem gut meßbaren Bereich liegen, aufwiesen, bietet sich die NK-Aktivität als Parameter für Rassenuntersuchungen beim Schwein und damit vielleicht sogar für Selektionsexperimente an.

6. Diskussion

Die Beobachtung der starken Zunahme von Faktorenerkrankungen in der Schweinezucht hat zu Überlegungen Anlaß gegeben, ob es möglich ist, den üblichen Selektionskriterien der Schweinezucht wie Leistungs- und Produktionseigenschaften als weiteres Merkmal das der Krankheitsresistenz hinzuzufügen.

Aus wirtschaftlichen und tierschutzrechtlichen Gründen verbietet es sich, die Schweine zu diesem Zweck Belastungsinfektionen auszusetzen. So bleibt nur der Weg, immunologische Parameter und ihre Bedeutung für eine allgemeine Krankheitsresistenz zu erfassen.

In Anlehnung an die BIOZZI'schen Mäuseversuche (Biozzi et al. 1979) wurde als Grundlage dieses Projektes der Versuch einer Selektion auf einen immunologischen Parameter, die maximale Antikörperbildung auf eine Immunisierung mit Dinitrophenyl-Hapten, gewählt und der Einfluß dieser Selektion auf weitere immunologische Parameter mit humoraler und zellulärer Basis untersucht.

Die Wahl des Selektionsantigens fiel auf DNP-Hapten, da bei anderen Versuchstieren eine Verbindung der Immunantwort auf DNP-Hapten mit dem Haupthistokompatibilitätskomplex vermutet werden durfte (Green et al. 1972, Ikeda et al. 1979, Tokuhisa et al. 1978). Allerdings scheinen zusätzlich weitere nicht mit dem MHC verbundene Gene bei der Immunantwort auf dieses Hapten eine Rolle zu spielen (Kipps et al. 1978). Für die Verwendung von DNP-Hapten beim Schwein sprach außerdem, daß in früheren Untersuchungen von Schweinen aus acht verschiedenen Rassen deutliche Rassenunterschiede in Bezug auf die Reaktion auf dieses Hapten zu beobachten waren, und daß in diesem Zusammenhang die Häufigkeitsverteilung der Antikörpertiter in Beziehung zur Phänotypenverteilung der

Lymphocytenantigene stand (Buschmann et al. 1975). Ein weiterer Vorteil der Verwendung von DNP-Hapten als Antigen beim Schwein ist, daß natürlicherweise im Serum von nicht immunisierten Tieren nur sehr geringe Antikörperspiegel gegenüber DNP gefunden werden: So fanden sich in Serumproben von unbehandelten Schlachthoftieren nur K-Werte bis etwa 0,13. Eine Erklärung für diese 'natürlichen' Antikörper, die unter Umständen auf einer Kreuzreaktion mit einem anderen Antigen beruhen, ist bisher nicht bekannt (Mäkelä u. Jormalainen 1974).

Für den Selektionsversuch wurden Ferkel der Deutschen Landrasse im Alter von 6-7 Wochen mit relativ hohen Antigendosen (60 mg bei der ersten und 100 mg bei der zweiten Injektion) immunisiert, da Schweine, wie schon eingangs erwähnt, eine hohe 'Toleranzschwelle' in Bezug auf Antigene, die bei anderen Spezies eine gut meßbare Immunreaktion hervorrufen, besitzen.

Als Bezugsgruppe wurde aus derselben Ausgangspopulation eine Zucht etabliert, in der nur nach den üblichen Produktions- und Leistungsmerkmalen selektiert wurde, und deren Ferkel im Verlauf der hier beschriebenen Untersuchungen als Kontrolltiere bezeichnet werden.

Die Antikörpertiter wurden im Phagen-Neutralisationstest mit an DNP gekoppelten T4-Bakteriophagen nachgewiesen. Es handelt sich hier zwar um einen indirekten Test, der sich jedoch als ausgezeichnet reproduzierbar erwies mit Hilfe von negativen und stark positiven Kontrollseren und durch die Tatsache, daß die Phagen auch über einen längeren Zeitraum ihre Aktivität unverändert beibehielten. Da die Antikörpertiter nach einer Mercaptoäthanol-Behandlung stark abfielen, kann gesagt werden, daß DNP-BSA als Antigen, trotz der zweimaligen Immunisierung, vor allem eine IgM-Immunantwort provoziert. Nur ein geringer Prozentsatz der spezifischen Antikörper sind IgG-Moleküle. Zudem handelt es sich bei der hier untersuchten Immunantwort um eine Hapten-spezifische Reaktion, denn die Prüfung der Seren auf anti BSA-Antikörper - bovines Serumalbumin wurde als Trägersubstanz für das

Hapten benutzt - fiel negativ aus.

In die Selektion wurden so weit als möglich nur Tiere mit einem möglichst hohen Antikörpertiter einbezogen, und so gelang es in nur vier Generationsschritten, den mittleren Antikörpertiter anzuheben (Tab. 4). Allerdings stieg auch der Mittelwert der Kontrollpopulation, in der Beschreibung der Ergebnisse als 'Zeittrend' bezeichnet, zwar wenig, aber kontinuierlich an. Um einen mütterlichen Transfer von Antikörpern auszuschließen, wurden die Seren von 50 F_4-Tieren, d.h. Ferkel von immunisierten F_3-Kontrolltieren, auf anti DNP-Antikörper untersucht. Das Resultat waren sehr niedrige K-Werte (0,0262 $\pm$ 0,0260); Titer, die damit im unteren Bereich der 'natürlichen' Antikörper liegen. Unter Umständen werden die Ergebnisse aber auch durch epistatische Geneffekte beeinflußt, die erfahrungsgemäß bei Selektionsexperimenten vor allem in den ersten Generationen auftreten.

Auffallend ist der starke Anstieg der Mittelwerte der selektierten Tiere in der F_3 mit dem nachfolgenden Abfall in der F_4, eine Beobachtung, die auch im Rahmen der BIOZZI'schen Mäuseversuche (Biozzi et al. 1979) gemacht wurde. Da dem maternalen Transfer nachweislich keine Bedeutung zukam, weder F_3- noch F_4-Ferkel zeigten vor der Immunisierung einen deutlich meßbaren Antikörpertiter, wurde das Phänomen der Toleranz infolge der hohen Antigendosierung (Chiller et al. 1971) in Betracht gezogen, weshalb bei weiteren Selektionsversuchen nur noch mit geringeren Antigen-Dosen immunisiert werden sollte.

Ob sich zudem eine bimodale Verteilung der K-Werte, wie sie sich in der F_3 und in der F_4 andeutet (Abb. 2), manifestiert, muß abgewartet werden, da nur 31,5% (F_3) bzw. 12,7% (F_4) der Tiere der jeweiligen Population dieser Gruppe mit sehr hohen Antikörpertitern zugehören.

Korrelierte Selektionsergebnisse auf humoraler Basis

Die im folgenden beschriebenen Untersuchungen dienten dem Zweck zu zeigen, ob sich die Selektion auf hohe Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten auch auf andere nicht kreuzreagierende Antigene erstreckt. Um eine möglichst breite Palette von verschiedenen Antigenen abzudecken, wurden T4-Phagen als virales, Tetanustoxoid als bakterielles und Hühnereialbumin als Fremdeiweiß-Antigen gewählt.

Die Immunisierung mit Tetanus-Vaccine verlief problemlos nach den Angaben des Herstellers, wogegen bei den Immunisierungen mit den beiden anderen Antigenen das Problem des Schweines als Versuchstier deutlich wurde: Es sind kaum oder nur schwer die von anderen Tieren her bekannten Antikörpertiter zu erreichen, und zudem erweisen sich vergleichende Dosis-Response-Versuche als sehr ungenau.

Zum Nachweis der Antikörpertiter wurden im Fall der T4-Phagen der Phagenneutralisationstest, nach der gleichen Methode wie der zum Nachweis von anti DNP - Antikörpern, und im Fall von Tetanustoxoid und Hühnereialbumin der passive Hämagglutinationstest und der ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) herangezogen.

Im passiven Hämagglutinationstest wird das Antigen mittels Glutardialdehyd an Erythrocyten gekoppelt, und durch die Vernetzung von vielen gebundenen Antikörpern kommt es zu einer sichtbaren Agglutination der Erythrocyten. Sind jedoch nur wenige Antigene gekoppelt oder nur wenige Antikörper im Serum vorhanden, unterbleibt die Agglutination, wogegen bei einem ELISA die Oberfläche einer speziellen Mikrotiterplatte direkt mit dem Antigen beschichtet wird und damit bei genügend dichter Beschichtung sämtliche Antikörper aus dem Serum gebunden werden können. Somit eignet sich der ELISA besser zum Nachweis auch geringer Antikörpermengen und

zeigt zudem bei allen Seren höhere spezifische Antikörpertiter an als der Hämagglutinationstest (Tab. 10,12), ein Effekt, der beim Vergleich von sehr ähnlichen Seren nur von Vorteil ist.

Ein Vergleich der Reaktion von selektierten und Kontroll-Tieren auf eine Immunisierung mit T4-Phagen bestätigt die BIOZZI'sche These, daß die selektierten Tiere auch auf ein anderes nicht verwandtes Antigen mit einem höheren Antikörpertiter reagieren als die Tiere der Kontrollpopulation. Wegen der hohen Variation der Werte (Tab. 8) ist der Unterschied zwar nicht signifikant ('t-Test', $p \leq 0{,}05$), eine einheitliche Tendenz der selektierten Tiere zu höheren Antikörpertitern darf jedoch angenommen werden. Unterstützung findet diese vermutete Tendenz durch die Gegenüberstellung von anti DNP- und anti T4 - K-Werten, dargestellt in Tab. 9, mit dem Ergebnis, daß zwischen diesen Werten eine hoch signifikante Korrelation ($p \leq 0{,}01$) besteht, was sowohl für die anti T4-Antikörpertiter nach einer ersten als auch für die nach einer zweiten Immunisierung gilt.

Nicht ganz so deutlich wird der Unterschied zwischen selektierten und Kontroll-Tieren bei den Immunisierungsversuchen mit Tetanus-Vaccine und Hühnereialbumin. Die Tiere der selektierten Linie reagieren zwar mit minimal höheren Antikörpertitern, ob es sich hierbei allerdings um eine durch die Selektion hervorgerufene Differenz handelt, muß noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Auffallend ist jedoch, daß diese minimal höheren Werte sowohl aus Hämagglutinations- als auch aus ELISA-Versuchen resultieren. Hierbei handelt es sich um eine Übereinstimmung, die bei Einbeziehung der Literatur (Terpstra et al., 1980) und der geringen Probenzahl ($n < 20$), nicht unbedingt erwartet werden durfte. Bei Betrachtung der Häufigkeitsverteilung der Antikörperwerte, 10-14 Tage nach der 1. Immunisierung (Abb. 3, 4), zeigt sich ein weiteres unerwartetes Phänomen: Die Werte der selektierten Tiere bilden eine normale Verteilungskurve, deren Gipfel in Annäherung dem Mittelwert entspricht, wogegen die der Kontrolltiere eine sehr viel stärkere Streuung um den Mittelwert aufweisen. Dies gilt sowohl für Werte, ermittelt im Agglutinationstest, als auch

für die, ermittelt im ELISA, und zudem unabhängig von der Art des Antigens. Demzufolge sprechen diese Ergebnisse für die Tendenz zu höheren Antikörpertitern auch in Bezug auf Tetanustoxoid und Hühnereialbumin als Folge der Selektion auf maximale Antikörperbildung gegenüber DNP-Hapten. Besondere Beachtung verdienen dabei die hochsignifikanten Korrelationen zwischen anti DNP- und anti Tetanus- bzw. Hühnereialbumin-Werten (Tab. 11, 13). Sie deuten auf die genetisch bedingte Veranlagung eines Individuums hin, auf diverse Antigene in einem ähnlichen Umfang zu reagieren. Leider erlaubten es die äußeren Versuchsbedingungen nicht, ein Tier mit mehr als zwei Antigenen, eines davon in jedem Fall DNP-Hapten, zu belasten, um dieses Phänomen auch für das Modell 'Schwein' zu verifizieren.

Korrelierte Selektionsergebnisse auf zellulärer Basis

Die in diesem Zusammenhang durchgeführten Untersuchungen sollten zeigen, inwieweit einzelne Parameter des zellulären Immunsystems durch die Selektion auf eine humoral meßbare Antigenantwort beeinflußt werden. Als Parameter dienten

- die Zahl der Leukocyten als immunkompetente Zellen im Blut
- der Anstieg des Glukose-1-^{14}C-Stoffwechsels während der Phagocytose von inaktivierten Staphylococcus epidermidis und Escherichia coli Keimen als Maß für die Phagocytosefähigkeit von Leukocyten (Buschmann u. Altstädten 1973, Buschmann u. Frohnwieser 1976)
- der Prozentsatz E- und EAC-rosettenbildender Lymphocyten als angenähertes Maß für die Anzahl von T- und B-Lymphocyten
- und die unspezifische Stimulierbarkeit von Lymphocyten in vitro durch Mitogene wie Phytohämagglutinin, Concanavalin A, Pokeweed Mitogen und Lipopolysaccharid von Salmonella typhosa.

Bei den Untersuchungen der Leukocytenzahlen und der Phagocytoseaktivität sind zwischen den selektierten Tieren und denen der Kontrollpopulation keine Unterschiede feststellbar. Die Ergebnismittelwerte und sogar ihre Standardabweichungen zeigen eine für zelluläre Experimente in vitro überraschend genaue Übereinstimmung, sodaß ein Einfluß der Selektion auf diese Parameter mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Die grobe Bestimmung des Prozentsatzes von T- und B-Lymphocyten mittels Rosettierung von Schafserythrocyten ist eine bereits seit langem etablierte Methodik. Sie eignet sich jedoch eher für die qualitative als für die quantitative Bestimmung von T- und B-Zellen, da u.a. nicht alle B-Zellen, dafür aber auch ein Teil der T-Zellen fähig sind, EAC-Rosetten zu bilden (Roitt 1980). Zudem wird der Grad der Rosettierung u.a. durch Faktoren wie Alter der Schafserythrocyten, Art des Mediums, pH-Wert, Temperatur und Zeit der Inkubation erheblich beeinflußt (Mercier 1974). Unter diesen Aspekten sind die Werte von selektierten und Kontroll-Tieren, die sich nur wenig unterscheiden, gleichzusetzen. Außerdem sprechen die hohen Standardabweichungen von 20-50% nicht für die Signifikanz der aufgezeigten Differenzen, sodaß auch in diesem Punkt ein Einfluß der Selektion verneint werden muß.

Auch ein in vitro Stimulationstest für Lymphocyten des Schweines incl. der in Tab. 15 angegebenen optimalen Mitogenverdünnungen war bereits als 'Makro-'Methode etabliert (Buschmann u. Pawlas 1980). Der Nachteil dieser Methode sind jedoch der hohe Verbrauch von radioaktivem Material und Mitogenen und vor allem ein mit vielen Fehlermöglichkeiten behaftetes Zellernteverfahren. Betrachtet man die mit dieser Methode gewonnenen Ergebnisse von selektierten und Kontroll-Tieren, so zeigt sich an den extrem hohen Standardabweichungen von 15-70%, daß den minimal höheren Werten der Kontroll-Tiere keine Bedeutung beigemessen werden

kann, insbesondere da saisonale (unveröffentlicht) und sogar wöchentliche (Abb. 5) Schwankungen in der Stimulierbarkeit von Lymphocyten eines Individuums und außerdem der Einfluß von Fütterungs- und Haltungsbedingungen auf diesen Parameter der zellulären Immunität (Symons et al. 1977) bekannt sind. Aus diesen Gründen wurde inzwischen die 'Mikro-'Methode des Stimulationstestes etabliert, die zumindest die in der Methodik beinhalteten Fehlerquellen erheblich reduziert. Sie fand jedoch nicht mehr im Rahmen des Selektionsversuches sondern erst bei den späteren Immunstatusuntersuchungen Verwendung.

Zusammenfassend zeigen die hier beschriebenen Versuche, daß die in vitro meßbaren Fähigkeiten immunkompetenter Zellen durch eine Selektion auf maximale Antikörperbildung unbeeinflußt bleiben.

Weitere immunologische Parameter für die Untersuchung von korrelierten Selektionsergebnissen

Als weitere mögliche Parameter für die Untersuchung korrelierter Selektionsergebnisse wurde die Reaktion auf Immunisierungen mit Rotlauf-Vaccine und Kaninchenimmunglobulin G, die direkt meßbare Phagocytose von Hefepartikeln und die spontane cytotoxe Aktivität von Schweinelymphocyten herangezogen.

Die Immunisierung von Ferkeln mit Kaninchenimmunglobulin G zeigte erneut die Problematik des Schweines als Versuchstier bei Immunisierungen. Trotz einer mittleren Dosierung von 50 mg pro Tier wurden spezifische Antikörper in nur geringen Mengen gefunden, und nur die Tiere, denen alaunpräzipitiertes bzw. hitzeaggregiertes KanIgG, von dem eine höhere immunogene Wirkung als von normalem KanIgG zu erwarten war, injiziert wurde, überlebten diesen Immunisierungsversuch. Die mit normalem KanIgG behandelten Ferkel verendeten wenige Stunden

nach der zweiten Injektion. Die genaue Ursache für den Tod dieser Tiere konnte nicht festgestellt werden, sie ist jedoch unter Umständen im Zusammenhang mit schon früher festgestellten Fällen von Serumkrankheit bei Schweinen nach der Immunisierung mit artfremdem Gammaglobulin (Schliesser u. Buschmann 1968) zu sehen, was auch das Fehlen von frei zirkulierenden und damit nicht nachweisbaren spezifischen Antikörpern erklären könnte. Infolge der hohen Mortalitätsrate mußte deshalb auf weitere Dosis-Response Versuche verzichtet werden, womit dieses Antigen für den Vergleich zwischen DNP-Hapten und nicht verwandten Antigenen entfällt.

Leichter gestalteten sich dagegen Immunisierungsversuche mit Rotlauf-Vaccine, ein nicht willkürlich ausgewähltes, sondern für die praktische Schweinezucht sehr bedeutendes Antigen. Der Nachweis der spezifischen Antikörper dagegen erwies sich als unerwartet schwierig, da weder bei der Benutzung des Bakterizidietestes noch bei der des passiven Hämagglutinationstestes reproduzierbare Ergebnisse resultierten. Für diesen Zweck scheint sich der ELISA-Test zu eignen, obwohl die Methodik noch einiger Verbesserungen bedarf. Damit eröffnet sich für die Zukunft die Möglichkeit, auch ein komplexes Antigen, d.h. inaktivierte Rotlauferreger, in die Untersuchungen der korrelierten Selektionsergebnisse einzubeziehen.

Die Phagocytose und damit Abtötung von Hefezellen durch Zellen des peripheren Schweineblutes ist unter dem Mikroskop zu verfolgen und damit eine genauere Methode zur Bestimmung der Phagocytoseaktivität als die oben beschriebenen Untersuchungen des Stoffwechsels von phagocytierenden Zellen. Bei Verwendung dieses Verfahrens zeigen sich deutliche rassenspezifische Unterschiede in der Phagocytoseaktivität (Tab. 16), womit ein weiterer immunologischer Parameter auf unspezifischer zellulärer Basis für die Untersuchung der korrelierten

Selektionsergebnisse gewonnen wurde.

Die unterschiedliche Häufigkeit des Auftretens spontaner Tumoren im Vergleich der BIOZZI'schen 'High' und 'Low Responder' Mäuse (Covelli et al. 1978) und der bekannte Einfluß der Aktivität der natürlichen Killer (NK)-Zellen auf spontane oder induzierte Tumoren (u.a. Herberman u. Holden 1978) führte zu Überlegungen, auch die NK-Aktivität als einen in vitro meßbaren zellulären Parameter in die Untersuchung der korrelierten Selektionsergebnisse einzubeziehen. Inzwischen wurde eine Methode für das Schweinesystem mit humanen K562- als Zielzellen etabliert (s. Kap. 4.3.4.) und zukünftige Rassenvergleiche werden zeigen, inwieweit sich die Bestimmung der NK-Aktivität für ergänzende Untersuchungen der selektierten Schweinelinie eignet.

Aus den hier beschriebenen Ergebnissen geht hervor, daß es auch beim Schwein möglich ist, eine Linie mit hohem Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten zu züchten. Die Tiere der selektierten Linie zeigen zudem die Fähigkeit, auch auf andere nicht verwandte Antigene wie T4-Bakteriophagen, Tetanustoxoid und Hühnereialbumin mit höheren Antikörpertitern zu reagieren als die Tiere einer Kontrollpopulation. In vitro meßbare zelluläre immunologische Parameter scheinen dagegen unbeeinflußt geblieben zu sein, wodurch die These bestätigt wird, daß die genetische Kontrolle der humoralen und die der zellvermittelten Immunität trotz ihrer ineinandergreifenden Funktionen unabhängig voneinander ablaufen. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch Biozzi et al. (1979) im Versuch mit Mäusen. Allerdings zeigte ihre 'High Responder' Linie eine negativ korrelierte Phagocytoseaktivität im Vergleich zur 'Low Responder' Linie, wogegen in den oben beschriebenen Schweineexperimenten selektierte und Kontroll-Tiere keine Unterschiede in ihrer Phagocytose-

aktivität aufwiesen. Dieses Kriterium bedarf allerdings noch weiterer Untersuchungen mit Hilfe anderer Methoden (z.B. direkter Nachweis der Phagocytose von Hefezellen, s. Kap. 5.3.3.) und über weitere Generationen von selektierten Tieren.

In Anbetracht dieser von Biozzi gefundenen negativen Korrelation von Antikörperbildungsvermögen und Phagocytoseaktivität ist es nicht wünschenswert, ad ultimum auf hohes Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP zu züchten, wenn die Tiere damit in hohem Maße Infektionen durch Erreger, die in Makrophagen überleben können, ausgesetzt sind. In diesem Punkt muß deshalb eine Lösung gefunden werden, die zwischen den beiden Extremfällen liegt.

Abgesehen von einer zu vermutenden erhöhten Krankheitsresistenz durch unsere Selektion bei Infektionen, deren positiver Ausgang vor allem von hohen Antikörpertitern abhängig ist, ist der Einfluß dieser Selektion auf die üblichen Leistungs- und Produktionsmerkmale der Schweinezucht von großem Interesse: In puncto Wurfgröße unterscheiden sich selektierte und Kontroll-Tiere nicht. Die selektierten Tiere zeigen aber eine etwas bessere Futterverwertung, eine höhere tägliche Zunahme, wenn auch eingeschränkt durch ein geringeres Gewicht dieser Schweine bei Mastbeginn, und ein ungünstigeres Fleisch-Fett-Verhältnis durch einen erhöhten Fettanteil des Schlachtkörpers als die Tiere der Kontrollpopulation. Obwohl die Fleischqualität (Göfo-Werte) der beiden Linien sehr ähnlich ist, hat sich die Halothanempfindlichkeit der Schweine durch die Selektion auf maximale Antikörperbildung zugunsten eines höheren Anteils halothanunempfindlicher Tiere verschoben (Kontrolltiere: 29% halothan-negativ, selektierte Tiere: 42% halothannegativ). Darin zeigt sich eine als hoch positiv zu wertende Korrelation, die die Durchführung des Selektionsexperimentes auch in Zukunft nicht in Frage stellen wird. Außerdem

eröffnet dieser deutlich gewordene Einfluß der Selektion auf das 'Halothan-Gen' interessante Möglichkeiten, das immunologische Profil eines Schweines in puncto Antikörperbildungsvermögen auch ohne aufwendige Immunisierungen erfassen zu können.

Unter diesem letztgenannten Aspekt wurde zusätzlich versucht, einen Einfluß der Selektion auf die Verteilung der Lymphocytenantigene zu finden. Frühere Untersuchungen deuten darauf hin, daß zwischen dem Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP und den Lymphocytenantigenen ein Zusammenhang besteht (Buschmann et al. 1975). Nach einer Anpassung der Markerseren an die internationale Nomenklatur, stehen die Ergebnisse in Bezug auf das Selektionsexperiment noch aus. Es zeichnet sich jedoch auch in diesem Punkt die Möglichkeit ab, ein immunologisches Verhalten relativ problemlos zu erfassen (D.O. Schmid, persönl. Mitteilung).

Für die praktische Schweinezucht kann jedoch nicht nur die Erfassung und Verbesserung eines immunologischen Parameters von Interesse sein, sondern vor allem eine Steigerung der gesamten immunologischen Kompetenz einer Population durch bewußte Selektion.

Angeregt durch Verfahren im humanen System (Urbaniak et al. 1978) und in der Rinderzucht (Kateley u. Bazzell 1978) wird zur Zeit versucht, ein Immunkompetenzprofil des Schweines zu erstellen. Als Parameter der T-Zell-Funktionen dienen dabei die in vitro Lymphocytenstimulierbarkeit durch spezifische Mitogene, die E-Rosettenbildung, und die Bestimmung der NK-Aktivität, als solche der B-Zell-Funktionen die Lymphocytenstimulierbarkeit mit bakteriellen Lipopolysacchariden, die EAC-Rosettenbildung, die Antikörperbildung in vivo gegenüber diversen Antigenen, und die Konzentration der verschiedenen Immunglobuline. Die Phagocyten-Funktionen werden bestimmt anhand der Stimulation des Glukosestoff-

wechsels während der Phagocytose und des Umfangs der Phagocytose und der Abtötung von Hefepartikeln. Um den Grad der genetischen Determination zu erfassen, werden die oben genannten Parameter im Vergleich von vier verschiedenen Schweinerassen untersucht. Schon jetzt zeichnet sich bei einigen Merkmalen eine signifikante Korrelation zur Rassenzugehörigkeit ab, u.a. in Bezug auf die Phagocytose von Hefezellen und die Konzentration des Serumimmunglobulins G. In Zukunft wird sich zeigen, ob diese Parameter gemäß ihrer genetischen Determination gewertet werden können, und ob infolgedessen die Bildung eines immunologischen Selektionsindexes möglich ist. Allerdings darf nicht unbeachtet bleiben, daß Krankheitsresistenz nicht nur auf immunologischen Grundlagen beruht. Am Beispiel Mastitis beim Rind hat sich gezeigt, daß zwar ein hoher IgG-Spiegel, hohe Phagocytoseaktivität und das Vorhandensein bestimmter Lymphocytenantigene negativ korreliert sind mit dem Auftreten einer Mastitiserkrankung, daß dabei aber die Anatomie des Euters eine mindestens ebenso große Rolle spielt (Gravert 1983). Damit erweist sich die Entwicklung eines immunologischen Selektionsindexes, allerdings unter Beachtung der jeweils spezifischen Randbedingungen, wie Fütterung und Haltung, aber auch Anatomie und Alter der Tiere, für eine Zucht auf höhere Krankheitsresistenz als gerechtfertigt.

7. Zusammenfassung

In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine Selektion von Schweinen auf maximales Antikörperbildungsvermögen gegenüber Dinitrophenyl-Hapten durchgeführt. Das Ziel dieses Projektes war die Klärung der Frage, inwieweit sich die Resultate der Modellversuche von BIOZZI et al. (1979) mit Mäusen auf die Haustierzucht übertragen lassen.

Aus den Ergebnissen kann abgeleitet werden, daß bereits durch wenige Selektionsschritte (F_o-F_4) der Antikörpertiter deutlich angehoben wird. Zudem wurde festgestellt, daß auch das Antikörperbildungsvermögen gegenüber anderen nicht verwandten Antigenen wie T4-Bakteriophagen, Tetanustoxoid und Hühnereialbumin durch die Selektion zugunsten höherer Werte verschoben wird. In Bezug auf die zwei letztgenannten Antigene wurden im Rahmen des Antikörpernachweises der passive Hämagglutinationstest und der ELISA gegenübergestellt und diskutiert.

Im Gegensatz zu diesen humoralen Parametern bleiben die in vitro meßbaren Parameter der zellulären Immunität wie Lymphocytenstimulierbarkeit durch Mitogene, die Phagocytosefähigkeit von Leukocyten und die Rosettenbildung der Lymphocyten durch die Selektion unbeeinflußt.

Außerdem wurden weitere Parameter, wie die Reaktionen auf Immunisierungen mit Kaninchenimmunglobulin und Rotlauf-Vaccine, die Phagocytose von Hefepartikeln und die Aktivität der natürlichen Killerzellen, auf ihre Eignung für die Untersuchung korrelierter Selektionsergebnisse geprüft.

Im weiteren wurden Wege aufgezeigt, mit Hilfe der oben genannten Parameter das Immunkompetenzprofil eines Schweines zu erstellen, um auf diese Weise die Bestimmung eines immunologischen Selektionsindexes zu ermöglichen.

8. Literaturverzeichnis

Adams, M.H. (1959)
Bacteriophages
Interscience Publ. Inc. New York

Adams, T.E., Brandon, M.R. (1981)
Genetic aspects of disease resistance in cattle
in J.E. Butler (ed.): The Ruminant Immune System, Plenum Press, M.Y. und London, 451-473

Andrae, L. (1982)
Prüfung der Unschädlichkeit und Wirksamkeit einer numerisch-additiven Kombinationsimpfung gegen Tetanus und Gasbrand bei Ferkeln und Affen
Vet. med. Diss. München

André, C., Bazin, H., Biozzi, G. (1977)
IgA antibody response to intragastric immunization in high and low immune responder lines of mice
Eur. J. Immunol. 7, 246-248

Andresen,E., Jensen, P. (1977)
Close linkage between the Hal locus for halothane sensitivity and the PHI locus in pigs of the Danish Landrace breed
Nordisk Veterinaermedicin 29, 502-504

Andresen, E. (1979)
Evidence indicating in the sequence PHI, Hal, H of the three closely linked loci in pigs
Nordisk Veterinaermedicin 31, 443-444

Andresen, E., Barton-Gade, P., Hyldgaard-Jensen, J., Joergensen, P.F. Nielson, P.B., Moustgaard, J. (1979)
Selection for improved meat quality with the aid of genetic markers in pigs of the Danish Landrace breed.
Acta Agriculturae Scandinavica 29, 291-294

Andresen, E., Jensen, P. (1979)
Functional additive effect of blood group alleles on carcass length in Danish Landrace pigs
Nordisk Veterinaermedicin 31, 229-232

Ansay, M., Ollivier, L. (1978)
Creatinine plasmatique et sensibilité du porc au syndrome d'hyperthermie maligne - relations avec deux enzymes du globule rouge (PHI et 6-PGD)
Annales de Genetique et de Selection Animale, 10, 9-16

Asten, P.H.F.M.van, Buis, R.C. (1977)
Gene frequencies of blood groups in Dutch swine breeds
Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 8, 39-43

Avrameas, S., Ternynck, T. (1969)
The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoadsorbents
Immunochemistry 6, 53

Bailey, E., Starmont, C., Suzuki, Y., Trammerhausen-Smith, A. (1979)
Linkage of loci controlling alloantigens on red blood cells and lymphocytes in the horse
Science 204, 1317-1319

Bauer, J. (1982)
Mykotoxikosen in der tierischen Produktion - Bedeutung und Diagnose
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95, 301-307

Berndt, W., Pitz, J., Blumel, J. (1978)
Untersuchungsergebnisse über Beziehungen zwischen Blutgruppenfaktoren bzw. Allelen und Leistungsmerkmalen beim Schwein
Archiv f. Tierzucht 21, 349-358

Biozzi, G., Asofsky, R., Liebermann, R., Stiffel, C., Mouton, D., Benacerraf, B. (1970)
Serum concentrations and allotypes of immunoglobulins in two lines of mice genetically selected for "high" and "low" antibody systhesis
J. Exp. Med. 132, 752-764

Biozzi, G., Stiffel. C., Mouton, D., Bouthillier, Y., (1975)
Selection of lines of mice with high and low antibody responses to complex immunogens, in: Immunogenetics and Immunodeficiency (Hsg. B. Benacerraf),
MTP Publishing Co., Lancaster, England, S. 179-227

Biozzi, G., Mouton, D., Stiffel, C., Sant'Anna, O.A., Bouthillier, Y. (1978)
The genetic regulation of antibody responsiveness to natural immunogens in relation to the protective effect of vaccination in: Pharmacology of immunoregulation (Hsg.: G.H.Werner, F. Floc'h) Academic Press, New York. S. 123-139

Biozzi, G., Mouton, D., Sant'Anna, O.A., Passos, H.C., Gennari, M., Reis, M.H., Ferreira, V.C.A., Heumann, A.M. Bouthillier, Y., Ibanez, O.M., Stiffel, C., Siqueira, M. (1979)
Genetics of immunresponsiveness to natural antigens in the mouse
Curr. Top. in Microbiol. and Immunol. 85, 31-98

Blum, K., Cioli, D. (1978)
Behaviour of Biozzi high and low responder mice upon infection with Schistosoma mansoni
Eur. J. Immunol. 8, 52-56

Boorman, G.A. Lina, P.H.C., Zurcher, C., Nieuwerkerk, H.T.M., (1973)
Hexamita and Giardia as a cause of mortality in congenitally thymus-less (nude)mice
Clin. exp. Immunol. 15, 623-627

Briles, W.E., Bumstead, N., Ewert, D.L., Gilmour, D.G., Gogusev, J., Hála, K., Koch, C., Longenecker, B.M., Nordskog, A.W., Pink, J.R.L., Schiermann, L.W., Simonsen, M., Toivanen, A., Vanio, O., Wick, G.: Nomenclature for chicken major histocompatibility (B) complex (1982)
Immunogenetics 15, 441-448

Buschmann, H., Altstädten, W. (1973)
Messung der Phagocytoseaktivität im Blut von Haustieren
Zbl. Vet. Med. 20, 321-323

Buschmann, H., Junge, V. Kräusslich, H., Radzikowski, A. (1974)
A study of the immune response to sheep erythrocytes in several breeds of swine
Med. Microbiol Immunol. 159, 179-190

Buschmann, H., Radzikowski, A., Kräusslich, H., Schmid, D.O., Cwik, S. (1975)
Untersuchungen über die Immunantwort gegenüber DNP-Hapten in mehreren Schweinerassen
Zbl. Vet. Med. B, 22, 155-161

Buschmann, H., Frohnwieser, B. (1976)
Factors influencing the phagocytosis-stimulated glucose oxidation in porcine leukocytes
Z. Imm.-Forsch. 152, 1-9

Buschmann, H., Pawlas, S. (1980)
A study of porcine lymphocyte populations
Vet. Immunol. Immunpathol. 1, 225-241

Cannat, A., Bousquet, C., Serre, A., (1978)
Response of high and low antibody producers to Brucella
Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 129C, 669-683

Capy, P., Renard, C., Sellier, P., Vaiman, M. (1981)
Etude préliminaire des relations entre le complex majeur d'histocompatibilité (SLA) et des charactères de production chez le porc.
Annales de Genetique et de Selection Animale 13, 441-445

Chiller, J.M., Habicht, G.S., Weigle, W.O. (1971)
Kinetik differences in unresponsiveness of thymus and bone marrow cells
Science, 171, 813-814

Comberg, G. (1978)
Schweinezucht
Verlag Eugen Ulmer Stuttgart S. 235-279

Covelli, V., Di Majo, V., Bassani, B., Metalli, P. (1978)
Life span and spontaneous tumours in mice selected for high and low antibody responses (Biozzi mice).
Br. J. Cancer 38, 472-475

Dausset, J., Svejgaard, A. (1977)
HLA and disease.
Munksgaard, Kopenhagen.

Debré, P., Kapp, J.A., Dorf, M.E., Benacerraf, B. (1975)
Genetic control of specific immune suppression -II.H-2-linked dominant genetic control of immune suppression by the random copolymer L-glutamic acid^{50}-L-tyrosine^{50} (G.T.)
J. Exp. Med. 142, 1447-1454

Del Guerico, P., Zola, H. (1972)
A comparison of the immune response to DNP in mice genetically selected for high of low antibody synthesis
Immunochemistry 9, 769

Dick, G.W.A., Niven, J.S.F., Gledhill, A.W. (1956)
A virus related to that causing hepatitis in mice (MHV)
Br. J. exp. Path. 37, 90-98

Dietzel, E., Geiger, H. (1964)
Gewinnung und Eigenschaften therapeutisch wichtiger Human-Plasmaproteine
Behringwerke-Mitteilungen, 43, 129

Doria, G., Agarossi, G., Biozzi, G., (1978)
In vitro immune response of spleen cells from mice genetically selected for high and low antibody production
Immunology 34, 999-1005

Edfors-Lilja, I., Petersson, H., Gahne, B. (1982)
The intestinal receptor for E.coli K88 in relation to performance ofSw.Yorkshire x Sw.Landrace pigs - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd. VII, S. 390-394

Eikelenboom, G., Minkema, D., Eldik, P.van, Sybesma, W. (1980)
Performance of Dutch Landrace pigs with different genotypes for the halothane - induced malignant hyperthermia syndrome.
Livestock Prod. Science 7, 317-324

Festing, M.F.W., May, D., Connors, T.A., Lovell, D., Sparrow, S. (1978)
An athymic nude mutation in the rat
Nature, 274, 365-366

Floc'h, F., Werner, G.H. (1978)
Comparative studies on susceptibility to some virus infection of mice selected with respect to their antibody responsiveness to an unrelated antigen, in:
Pharmacology of immunoregulation (Hsg.: G.H. Werner, F.Floc'h), Academic Press, New York, S. 153-161

Frøystein, T., Noestvold, S.O., Braend, M., Storseth, A. (1981)
Halothane sensitivity and blood types in the Norwegian pig breeding stock and the associations with production and meat quality traits - Porcine stress and meat quality - Proceedings of the Symposium held at Refsnes Gods/Norway, 1980 S. 161-176

Fuensaladia-Draper, E. (1980)
Chlamydia psittaci infection in lines of mice with high or low antibody responses
Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 131D, 217-222

Fujiwara, K., Tamura, T., Taguchi, F., Hriano, N., Ueda, K., (1977)
Wasting disease in nude mice infected with facultatively virulent mouse hepatitis virus
in: Proceedings of the Second International Workshop on Nude Mice (Hsg.: T. Nomura, N. Ohsawa, N.Tamaoki, K. Fujiwara) University of Tokyo Press, Tokyo und Gustav Fischer Verlag, Stuttgart; S. 53-60

Gavora, J.S., Spencer, J.L. (1979)
Studies on genetic resistance of chickens to Marek's disease
Comp. Immun. Microbiol. Inf. Dis. 2, 359-371

Gavora, J.S., Spencer, J.L., Gowe, R.S., Harris, D.L. (1980)
Lymphoid leukosis virus infection: Effects on production and mortality and consequences in selection for high egg production
Poultry Sci. 59, 2165-2178

Gavora, J.S. (1982)
Disease Resistance - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd. V, S. 143-149

Gedek, B. (1980)
Kompendium der medizinischen Mykologie
Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg, S. 283-373

Gravert, H.O. (1983)
Züchtung gegen Mastitis?
Der Tierzüchter, 2, 58-59

Green, J., Paul, W.E., Benacerraf, B. (1972)
Histocompatibility-linked genetic control of the immune response to hapten guinea pig albumin conjugates in inbred guinea pigs
J. Immunol. 109, 457-463

Grunder, A.A. Kristjansson, F.K. (1974)
Genetic control of serum esterases in day-old pigs
Anim.Blood Groups and Biochem. Genetics 5, 143-151

Hale, C., Howard, J.G. (1981)
Immunological regulation of experimental cutaneous leishmaniasis. 2. Studies with Biozzi high and low responder lines of mice
Parasite Immunology 3, 45-55

Herberman, R.B., Holden, H.T. (1978)
Natural cell-mediated immunity in:
Advances Cancer Res. (Hsg.: G. Klein, S. Weinhouse) Academic Press, New York, 27, 305

Heumann, A.M.,Stiffel C. (1978)
Réponse immunologique des souris de lignées bonnes et mauvaises productrices d'anticorps envers un antigène non apparenté à l'antigène de sélection
Ann. Immunol. (Paris) 129C, 13-27

Heumann, A.M., Stiffel, C., Monjour, L., Bucci, A., Biozzi, G., (1979)
Correlation between genetic regulation of antibody responsiveness and protective immunity induced by Plasmodium berghei vaccination.
Infect. and Immun. 24, 829-836

Hojny (1974)
H blood group genotypes and expression of A and O antigens in pigs
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics 5, 3-10

Howard, J.G. Courtenay, B.M., Desaymard, C. (1974)
Equivalent responsiveness to branched polysaccharides and their dinitrophenyl conjugates in the BIOZZI high and low responder lines of mice
Eur. J. Immunol. 4, 453-457

Hruban, V., Simon, M., Hradecky, J., Jilek, F. (1976)
Linkage of the pig main histocompatibility complex and the J blood group system.
Tissue Antigens 7, 267-271

Hruban, V., Simon, M., Hradecky, J., Pazdera, J. (1977)
Serologically defined specifities of the pig main histocompatibility complex
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics 8, 85-92

Hutt, F.B. (1958)
Genetic resistance to disease in domestic animals
Comstock Publishing Associates Ithaca, New York

Hyldgaard-Jensen, J., Nielsen, P.B., Agergaard, N. (1979)
Blood parameters and gene frequency trends in studies of porcine meat quality.
Acta Agric. Scan, 21, 289-301

Ikeda, H., Takizawa, K., Yamamoto, T., Odaka, T. (1979)
Genetic control of anti-DNP response to DNP-BSA given by continuous infusion technique
J. Immunogenetics 6, 129-140

Imlah, P. (1974)
Blood group genotype effect on litter size at birth and at three weeks of age
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics, 5, 37-38

Imlah, P., Thomson, S.R.M. (1979)
The H blood group locus and meat colour, and using blood groups to predict halothane reactors
Acta Agric. Scan. 21, 403-410

Jacobson, R.H., Reed, N.D. (1974)
The thymus dependency of resistance to pinworm infection in mice
J. Parasitol. 60, 976

Jenkins, D.C., Carrington, T.S. (1981)
Nematosporoides dubius: the course of primary, secondary and tertiary infections in high and low responder Biozzi mice.
Parasitology 82, 311-318

Jensen, P., Andresen, E. (1980)
Testing methods for PSE syndrome: Current research in Denmark
Livestock Prod. Science 7, 325-335

Jensen, P. (1981)
Carcass and meat quality of pigs with known genotypes for halothane susceptibility -
Porcine stress and meat quality- Proceedings of the Symposium held at Refsnes Gods/Norway, 1980, S. 267-273

Joergensen, P.F., Hyldgaard-Jensen, J., Eikelenboom, G., Moustgaard, J. (1977)
Meat quality, halothane sensitivity and blood parameters-
Proceedings of the 3rd Int. Conference on Production Disease in Farm Animals, Wageningen /Niederlande 1976, 200-202

Joergensen, P.F. (1978)
Halothane sensitivity, the H blood group system and phosphohexose isomerase in pigs. A linkage study of physiological importance
Acta Vet.Scan, 19, 458-460

Juneja, R.K., Gahne, B. (1981)
Polymorphic serum prealbumin (Pa) of pig, identified as an alpha 1-protease inhibitor.
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics 12, 47-51

Kallweit, E., Scheuerbrandt, G., Bickhardt, K. (1978)
Vergleich zweier Methoden zur Messung der Creatinkinase (CK)-Aktivität und ihrer Aussage für Merkmale der Fleischqualität beim Schwein
Tierzüchtung u. Züchtungsbiologie 94, 178-185

Kallweit, E., Groeneveld, E. (1981)
Der Halothan-Test
Schweinezucht u. Schweinemast 29, 9-11, 40-43

Kateley, J.R., Bazzell, S.Z. (1978)
Immunologic studies in Holstein-Friesian Cattle: An immunocompetence profile
Am. J. Vet. Res. 39, 1683-1687

Katz, D.H., Benacerraf, B. (1976)
The role of products of the histocompatibility gene complex in immune responses
Academic Press, Inc., New York

Keusch, G.T., Douglas, S.D., Mildvan, D., Hischman, S.Z. (1972)
^{14}C-glucose oxidation in whole blood: a clinical assay for phagocyte dysfunction
Infect. Immun. 5, 414

Klein, J. (1979)
The major histocompatibility complex of the mouse
Science 203, 516-521

Kierek-Jaszczuk, D., Zurkowski, M. Skladanowska-Krzyzanowska, E. (1979)
Serum alkaline phosphatase polymorphism in pigs
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics 10, 15-18

Kierszenbaum, F., Howard, J.G. (1976)
Mechanisms of resistance against experimental Trypanosoma cruzi infection: the importance of antibodies and antibody-forming capactiy in the BIOZZI high and low responder mice
J. Immunol. 116, 1208-1211

Kipps, T.J., Benacerraf, B., Dorf, M.E., (1978)
Analysis of the restricted dinitrophenyl (DNP) antibody response to the DNP conjugate of poly- (L-Glu56, L-Lys35, L-Phe9)
J. Immunol. 120, 46-52

Kräusslich, H. (1982)
Disease Resistance - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd. VII, S. 321-324

Kramser, P. (1973)
Polymorphismus der 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD) in pig erythrocytes
Wiener Tierärztliche Monatsschrift 60, 174-176

Lagrange, P.H., Hurtrel, B., Thickstun, P.M (1979)
Immunological behavior after mycobacterial infection in selected lines of mice with high or low antibody responses.
Infect. and Immun. 25, 39-47

Lehrer, R.J., Cline, M.J. (1969)
Interaction of Candida albicans with human leucocytes and serum
J. Bacteriol 98, 996-1004

Leibold, W., Janotte, G., Peter, H.H. (1980)
Spontaneus cell-mediated cytotoxicity (SCMC) in various mammalian species and chickens: Selektive reaction pattern and different mechanisms
Scand. J. Immunol. 11, 203-222

Lengerken, G. von, Albrecht, V., (1981)
Eignung biochemischer und physiologischer Kennwerte im Blut von Schweinen für die Früherkennung einer Praedisposition zur Ausbildung von Fleischqualitätsmängeln
Arch. Tierzucht, Berlin 24, 1-13

Liacopuoulos-Briot, M., Bouthillier, Y., Mouton, D., Lambert, F., Decreusefond, C., Stiffel, D., Biozzi, G. (1972)
Comparison of skin allograft rejection and cytotoxic antibody production in two lines of mice genetically selected for "high" and "low" antibody synthesis
Transplantation 14, 590-596

Liacopoulos-Briot, M., Mouton, D., Stiffel, C., Lambert, F., Decreusefond, C., Bouthillier, Y., Biozzi, G. (1974)
Réponse à la phytohémagglutinine des lymphocytes de 2 lignées de souris génétiquement sélection nées pour une forte et une faible synthése d'anticorps.
Ann. Immunol (Paris) 125C, 393-404

Lie, O., Solbu, H., Spooner, R.L., Larsen, H.J., Syed, M. (1982)
General design of a study on markers of disease resistance in cattle - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Bd. VII, S. 378-384

Liebermann, R., Stiffel, C., Asofsky, R., Mouton, D., Biozzi, G., Benacerraf, B. (1972)
Genetic factors controlling antisheep erythrocyte antibody response and immunoglobulin synthesis in backcross and F_2 progeny of mice genetically selected for "high" or "low antibody synthesis
J. Exp. Med. 136, 790-798

Lucke, J.N., Hall, G.M., Lister, D. (1979)
Malignant hyperthermia in the pig and the role of stress
Annls. N.Y. Acad. Sci. 317, 326-337

Lunney, J.K., Sachs, D.H. (1978)
Transplantation in miniature swine: IV. Chemical characterization of MSLA and Ia-like antigens
J. Immunology 120, 607-612

Mäkelä, O., Jormalainen, S. (1974)
Natural anti-hapten antibodies
Med. Biol. 52. 355-371

McDevitt, H.O., Benacerraf, B. (1969)
Genetic control of specific immune responses.
Adv. Immunol 11. 31-74

McDevitt, H.O., Deak, B.D. Shreffler, D.C., Klein, J.,
Stimpfling, J.H., Snell, G.D. (1972)
Genetic control of the immune response
J. Exp. Med. 135, 1259-1278

McGarry, M.P., Bahny, L., Jividen, J., Williams, P., Mirand,
E.A., Murphy, G.P. (1976)
Particulate matter induced periorbital abscess in gnotobiotic
athymic nu/nu (nude) mice.
Lab. Animal. Sci. 26, 956-958

McIntosh , J.T., Cockrem, F.R.M. (1982)
The genetics of the susceptibility to bloat in cattle and
the use of specific salivary proteins as indicators of their
phenotypes - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock
Production, Madrid 1982, Bd. VII, S. 385-389

Mercier, P. (1974)
The rosettes and the immuno-cyto-adherence: Analytic assay
Biomedicine 20, 17-23, 131-137

Meurier, C., (1965)
Pertes économiques dues aux maladies en aviculture.
3rd Congress of the World Veterinary Poultry Association,
Sept. 1965, S. 1-22

Miller, R.H. (1982)
Genetics of resistance to mastitis- 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd,V, S. 186-198

Millot, P. (1979)
Genetic control of lymphocyte antigens in sheep: The OLA complex and two minor loci.
Immunogenetics 9, 509-534

Moore, G.J., Aldres, P. (1978)
Treatment of Pasteurella pneumotropica abscesses in nude mide (nu/nu)
Lab. Animals 12, 227-228

Mornet, P. (1982)
La pathologie-vu ensemble. In: Les maladies animals et leur incidence sur l'économie agricole, Hsg. P. Mornet, Regards sur la France, 16, 137-143

Mossmann, H. (1970)
Darstellung und Eigenschaften von Hapten-Bakteriophagenkonjugaten und ihre Verwendung zum Nachweis haptenspezifischer Antikörper
Vet. med. Diss. München

Mouton, d., Bouthillier, Y., Oriol, R., Decreusefond, C., Stiffel, C., Biozzi, G. (1974)
Intensité de la réaction d'hypersensibilité retardée chez les souris des lignées sélectionnées 'bonnes' et 'mauvaises' productrices d'anticorps.
Ann. Immunol. (Paris) 125C, 581-588

Mozes, E., Shearer, G.M. (1972)
Genetic control of immune response
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 59, 167-200

Mozes, E., Isac, R. (1976)
Antigen specific T cell factors in the genetic control of the immune response to poly (tyr, glu) poly (pro)-- poly (lys)
Adv. Exp. Med. Biol. 66, 547

Muggenburg, B.A., Reimann, E.M., Kowalczyk, T., Hoekstra, W.G., (1967)
Effect of reserpine and histamine in mineral oil-bees wax vehicle on gastric secretion in swine
Am. J. Vet. Res. 28, 1427-1435

Nelson, T.E. (1978)
Excitation-contraction coupling: a common etiologic pathway for malignant hyperthermia susceptible muscle, in:
Malignant Hyperthermia (Hsg: J.A. Aldrete, B.A. Britt).
Grune u. Stratton, New York, S. 23-36

Nelson, T.E., Flewellen, E.H. (1979)
Malignant hyperthermia: diagnosis, treatment and investigation of a skeletal muscle lesion
Texas Rep. Biol. Med. 38, 105-120

Nielsen, P.B. (1979)
Analysis of gene combinations in the PHI, H and PGD systems in Danish Landrace pigs
Arsberetning, Institut for Sterilitetsforskning kongelige Veterinaer-og Landbohoejskole, 22, 177-186

Nilsson, M.R., Sant'Anna, O.A. Siqueira, M., Nilsson, T.T. Gennari, M. (1979)
Rabies virus immunity in genetically selected high and low responder lines of mice
Infect. and Immun. 25, 23-26

O'Brien, A., Rosenstreich D.L., Metcalf, E., Scher, J. (1980)
Differential sensitivity of inbred mice to Salmonella typhimurium: a model for genetic regulation of innate resistance to bacterial infection, In: Genetic control of natural resistance to infection and malignancy (Hsg.: E. Skamene, P.A.L. Kongshavn, M. Landy)
Academic Press London/New York S. 101-112

Oishi, T., Komatsu, M., Abe, T. (1979)
Breed variations of gene frequencies in pig red cell PHI, 6-PGD, PGM and ADA enzyme systems and their availability for paternity test
Jap. J. Zootech. Sci. 50, 879-884

Pawlas, S. (1979)
Untersuchungen zur Charakterisierung der Lymphocytenpopulationen von Schwein und Rind
Vet. med. Diss. München

Pennington, L.R., Flye, W.M., Kirkman, R.L., Thistlethwaite, J.R., Williams, G.M., Sachs, D.H. (1981)
Transplantation in miniature swine:X. Evidence for non-SLA-linked immune response gene(s) controlling rejection of SLA-matched kidney allografts
Transplantation 32, 315-320

Perrudet-Badoux, A., Binaghi, R.A., Biozzi, G. (1975)
Trichinella infestation in mice genetically selected for high and low antibody production.
Immunology 29, 387-390

Perrudet-Badoux, A., Binaghi, R.A., Boussac-Aron,Y. (1978)
Trichinella spiralis infection in mice: mechanism of the resistance in animals genetically selected for high and low antibody production
Immunology 35, 519-522

Plant, J.E., Glynn, A.A. (1980)
Control of resistance to Salmonella typhimurium in hybrid generations of inbred and BIOZZI mice. In: Genetic control of natural resistance to infection and malignaancy (Hsg: E. Skamene, P.A.L. Kongshavn, M. Landy) Academic Press, London/New York, S. 133-140

Prouvost-Danon, A., Stiffel, C., Mouton, D., Biozzi, G. (1971)
Anaphylactic antibodies in mice genetically selected for antibody production
Immunology 20, 25-27

Radzikowsky, A., Meyer, J., Buschmann, H., Averdunk, G., Blendl, H.M., Osterkorn, K. (1974)
Zur Variation der Immunantwort bei mehreren Schweinerassen
Z. Tierzüchtung u. Züchtungsbiologie 91, 59-74

Rapacz, J., Hasler-Rapacz, J., Kuo, W.H., Li, D., (1976)
Immunogenetic polymorphism of lipoproteins in swine- I: Four additional serum beta-lipoproteine allotypes in the Lpp system.
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics, 7, 157-177

Rapacz, J., Hasler-Rapacz, J., Kuo, W.H. (1978)
Immunogenetic polymorphism of lipoproteins in swine - II: Five new allotypic specificities in the Lpp system
Immunogenetics 6, 405-424

Rasmusen, B.A., Beece, C.K., Christian, L.L. (1980)
Halothane sensitivity and linkage of genes for H red blood cell antigens, phosphohexose isomerase (PHI) and 6-phospho-gluconate dehydrogenase (6-PGD) variants in pigs
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics 11, 93-107

Reed, N.D. Isaak, D.D., Jacobson, R.H. (1977)
The use of nude mice in model systems for studies on acquired immunity to parasitic infections
in: Proceedings of the Second International Workshop on Nude Mice (Hsg.: T. Nomura, N. Ohsawa, N. Tamaoki, K. Fujiwara) University of Tokyo Press, Tokyo and Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S. 3-16

Renard, Ch., Vaiman, M., Capy, P. Sellier, P. (1982)
SLA markers and characters of production in the pig - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production Bd. VIII S. 570-583

Richter, L., Flock, D.K., Bickhardt, K. (1973)
Creatin-Kinase-Test als Selektionsmerkmal zur Schätzung der Fleischbeschaffenheit im Rahmen der Eigenleistungsprüfung beim Schwein
Züchtungskunde 45, 429- 437

Roitt, I.M. (1980)
Essential Immunology - 4. Aufl. - Blackwell Scientific Publications, Oxford

Rosenthal, A.S. Barcinski, M.A., Rosenwasser, L.J. (1978)
Function of macrophages in genetic control of immune responsiveness
Fed. Prod. 37, 79

Sant'Anna, O.A., Bouthillier, Y, Siqueira, M., Biozzi, G. (1979)
Differences in the genetic control of primary and secondary antibody responses.
Immunology 37, 849-856

Schliesser, Th. Buschmann, H. (1968)
Über einen Fall von Serumkrankheit beim Schwein
Tierärztliche Umschau 6, 271

Snedecor, G.W. (1956)
Statistical Methods
The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA; S. 46,174

Snell, G.D., Dausset, J., Nathenson, S. (1976)
Histocompatibility
Academic Press, New York

Solbu, H., Spooner, L., Lie, O., (1982)
A possible influence of the bovine major histocompatibility complex on mastistis - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd. VII, S. 368-371

Spooner, R.L., Morgan, A.L.G., Ollivier, R.A. (1980)
Absorptionanalysis of BoLAsera
Tissue Antigens, 15, 280-296

Stiffel, C., Mouton, D., Bouthillier, Y., Heumann, A.M., Decreusefond, C., Mevel, J.C., Biozzi, G, (1974)
Polygenic regulation of general antibody sythesis in the mouse. In: Progress in immunology II, Bd. II, Biological aspects I. Hsg.: L. Brent, J. Holborow) North-Holland, Amsterdam, S. 203-212

Stone, W.H. (1981)
The bovine lymphocyte antigen (BoLA) system
in J.E. Butler (ed.): The Ruminant Immune System, Plenum Press, M.Y. und London, S. 433-450

Stoner, R.D., Hess, M.W., Bond, V.P. (1965)
Radiation and Infection: An Annotated Bibliography, Medical Research Center, Brookhaven National Laboratory, Upton, N.Y.

Symons, D.B.A. Lay, C.A., McDonald, A.N. (1977)
Stimulation of pig lymphocytes with anti-immunoglobulin serum and mitogens
Int. Archs. Allergy 54, 67-77

Tada, T., Taniguchi, M., David, C.S. (1976)
Properties of antigen-specific suppressive T cell factor in the regulation of the antibody response of the mouse - IV: Special subregion assignment of the gene(s) that codes for the suppressive T cell factor in the H-2 histocompatibility complex
J. Exp. Med. 144, 713-725

Terpstra, W.J., Ligthart, G., Schoone, G.J. (1980)
Serodiagnosis of Human Leptospirosis by Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 247, 400-405

Tikhonov, V.N., Ratiany, D., (1973)
Blood group gene frequency differences between European and Asian pigs and their hybrids
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics. 4, 181-182

Tokuhisa, T., Taniguchi, M., Okumura, K., Tada, T. (1978)
An antigen specific I region gene product that augments the antibody response
J. Immunol 120, 414-421

Topel, D.G., Bicknell, E.J., Preston, K.S., Christian, L.L. Matsushima (1968)
Procine stress syndrome.
Mod. vet. Practice 49, 40-60

Unanue, E.R., Biozzi, G., Benacerraf, B., (1974)
Immunocytochemical studies on B lymphocytes from the Biozzi high and low lines of mice selected for their responses to heterologous erythrocytes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 145, 1243-1249

Urbaniak, S.J., White, A.G., Barclay, G.R., Wood. S.M., Kay A.B. (1978)
Tests of immune function, in: Handbook of experimental immunology (Hsg.: D.M. Weir) Blackwell Scientific Publications
S. 47.1-47.31

Vaiman, M., Hauptmann, G., Mayer, S. (1978a)
Influence of the major histocompatibility complex in the pig (SLA) on serum haemolytic complement levels
J. Immunogentics 5, 59-65

Vaiman, M.,Metzger J.J., Renard, C., Vila, J.P. (1978b)
Immune response gene(s) controlling the humoral anti-lysozyme response (Ir-Lys) linked to the major histocompatiblity complex SL-A in the pig
Immunogenetics 7, 231-238

Vogel, F., Motulsky, A.G. (1979)
Human Genetics - Problems and Approaches
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York;S.168-169

Walters, J.R., Sellwood, R. (1982)
Aspects of genetic resistance to K88 E.coli in pigs -
2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Madrid 1982, Bd. VII, 362-367

Ward, J.W., Houchens, D.P. Collins, M.J., Young, D.M., Reagan, R.L. (1976)
Naturally occurring Sendai virus infection of athymic nude mice
Vet. Path. 13, 36-46

Watanabe, S., Akita, T., Koishikawa, T., Naito, M. (1979)
Association between halothane reactivity and PHI phenotypes and its significance for predicting meat quality in Japanese Landrace pigs
Jap. J. Zootech. Sci. 50, 574-581

Webb, A.J., Carden, A.E. Smith, C., Imlah, P. (1982)
Porcine stress syndrom in pig breeding - 2nd World Congress on Genetics applied to Livestock Producton, Bd. V, 588-608

Widar, J., Ansay, M., Hanset, R. (1975)
Allozymic variation as an estimate of heterozygosity in Belgian pig breeds
Anim. Blood Groups and Biochem. Genetics. 6, 221-234

Wiener, E., Bandieri, A., (1974)
Differences in antigen handling by macrophages from the Biozzi high and low responder lines of mice
Eur. J. Immunol. 4, 457-463

Willer, S., Neuffer, K. (1980)
Phänotyp- und Genfrequenzen polymorpher Serumproteine beim Schwein
Arch. Exp. Vet. Med. 24, 1071-1076

Woolcock, J.B. (1979)
Bacterial infection and immunity in domestic animals
Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam, Oxford,
New York, 105, 173

Zurkowski, M., Thomaszewska- Guszkiewicz, K., Klucinski, W.
(1974)
Serum proteins polymorphism in Zlotnicka pig
Genetica Polonica 15, 119-123

Lebenslauf

geboren	am 18. August 1953 in Mülheim an der Ruhr
Eltern	Dipl.-Ing. Dr. Rolf Kleinschmidt und Helga Kleinschmidt, geb. Schütz
1960-1964	Grundschule in Mülheim a. d. Ruhr
1964-1972	Städt. Neusprachliches Gymnasium in Mülheim a. d. Ruhr
Mai 1972	Abitur
April 1973	Beginn des Biologie-Grundstudiums an der Universität Kiel
Juli 1975	Diplom-Vorprüfung in Biolgie an der Universität Kiel
Oktober 1975	Beginn des Biologie Hauptstudiums mit Hauptfach Mikrobiologie an der Universiät Tübingen
November 1977	Diplom-Hauptprüfung an der Universität Tübingen
November 1977 - Juni 1979	Experimentelle Diplomarbeit am Institut für Exp. Chirurgie und Immunologie der Universität Tübingen bzw. am Institut für Immunologie der Universität München
September 1979	Beginn der vorliegenden Dissertation
seit Januar 1980	Anstellung als wissenschaftliche Mit- arbeiterin am Institut für Med. Mikro- biologie, Infektions- und Seuchenmedi- zin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München